

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

**FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Microbiología I**



**IDENTIFICACIÓN Y PODER PATÓGENO DE
MICRORGANISMOS DEL GÉNERO
“CORYNEBACTERIUM” AISLADOS DE
MUESTRAS CLÍNICAS.**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

María Isabel Fernández Natal

Bajo la dirección del doctor

Francisco Soriano García

Madrid, 2010

ISBN: 978-84-693-4788-1

© María Isabel Fernández Natal , 2009

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Microbiología I



**IDENTIFICACIÓN Y PODER PATÓGENO
DE MICROORGANISMOS
DEL GÉNERO *Corynebacterium*
AISLADOS DE MUESTRAS CLÍNICAS**

**Memoria presentada por María Isabel Fernández Natal para optar al
Grado de Doctor en la Facultad de Medicina**

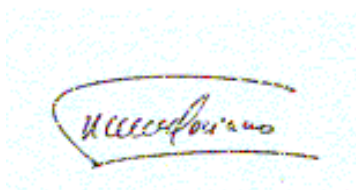
Madrid, 2009

Dr. Francisco Soriano García, Jefe de la Unidad de Investigación en Microbiología Médica y Quimioterapia Antimicrobiana de la Fundación Jiménez Díaz – Capiro.

CERTIFICA:

*Que la presente memoria titulada “**Identificación y poder patógeno de microorganismos del género Corynebacterium aislados de muestras clínicas**”, ha sido realizada bajo mi dirección por María Isabel Fernández Natal en la Unidad de Investigación Microbiología Médica y Quimioterapia Antimicrobiana de la Fundación Jiménez Díaz – Capiro. Estimando que se encuentra finalizada y en condiciones de optar al grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid, se solicita sea admitida a trámite para su lectura y defensa pública.*

Madrid, a 22 de junio de 2009

A handwritten signature in blue ink, enclosed within a hand-drawn oval border. The signature appears to read 'Francisco Soriano'.

Francisco Soriano García

RESUMEN

En el estudio bacteriológico de muestras clínicas seleccionadas se aislaron bacterias corineformes en el 3,7% de las mismas (431 de un total de 47.360 muestras) perteneciendo el 82,3% al género *Corynebacterium*. Las especies más frecuentemente identificadas del género *Corynebacterium* fueron: *C. amycolatum* (30,9%), *C. striatum* (13,5%), *C. coyleae* (10,9%) y *C. jeikeium* (9,3%). Entre los corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium* predominó: *Brevibacterium* spp. (31,9%), *Dermabacter hominis* (9,4%) y *Gordona sputi* (9,4%).

La concordancia de la identificación fenotípica con el análisis de la fracción 16S del ADN ribosómico fue del 14,2% para el sistema API Coryne™ V2.0, 70,0% para el sistema Biolog™ GP2 y del 90,3% para el sistema API Coryne™ V2.0 con pruebas complementarias, pudiendo ser éste último un método adecuado para la identificación de estos microorganismos.

Todos los aislados del género *Corynebacterium* fueron sensibles a vancomicina (CMI <2 mg/L) y linezolid (CMI <1 mg/L). Otros antibióticos significativamente activos fueron: ácido fusídico, telitromicina, tetraciclina y quinupristina/dalfopristina. La tasa de resistencia a ampicilina fue superior al 90% en *C. amycolatum*, *C. jeikeium* y *C. urealyticum* y menor del 6% en *C. coyleae*, *C. aurimucosum*, *C. ureicelerivorans*, *C. striatum* y *C. afermentans* subsp. *afermentans*. La resistencia global a los antibióticos fue mucho más alta en *C. urealyticum*, *C. amycolatum*, *C. jeikeium* y *C. striatum* mientras que fue más baja en *C. afermentans* subsp. *afermentans*, *C. coyleae*, *C. aurimucosum* y *C. ureicelerivorans*.

Se observó una alta tasa de resistencia a eritromicina (51,5-100%) y a clindamicina (62,5-100%) entre las diferentes especies identificadas haciendo poco recomendable el tratamiento empírico con estos antibióticos. El fenotipo de resistencia a antibióticos del grupo MLS_B fue MLS_B constitutivo (85,5%), seguido del fenotipo M eflujo (6,6%) y MLS_B inducible (1,9%). El gen *erm*(X) fue detectado en 88 de los 93 aislados con fenotipo de resistencia MLS_B (94,6%).

Las especies que más se asociaron a aislamiento con significado clínico (definitivo y probable) fueron *C. jeikeium* (84,2%), *C. ureicelerivorans* (83,3%) y *C. urealyticum* (75,0%). Por el contrario, las especies con menor significado clínico fueron *C. aurimucosum* (25,0%) y *C.*

amycolatum (38,0%). Se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.000$; OR: 11,7; IC95%: 3,6-38,1) entre la evolución favorable o no y el tratamiento administrado. Cuando el fármaco era activo *in vitro* frente al microorganismo, la evolución fue favorable en el 89,3% de los casos mientras que, en caso contrario, dicha evolución favorable aconteció sólo en el 41,7% de los casos.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Francisco Soriano García, por la dirección y supervisión de esta tesis, así como el estímulo y la confianza depositada en mí.

A la Dra. María Luisa Gómez-Lus Centelles, por su labor facilitadora y generosidad.

Al Dr. Juan Antonio Sáez Nieto y a la Dra. Sylvia Valdezate Ramos, por su eficaz colaboración en este trabajo.

Al Dr. Antonio Blanco Mercadé, mi marido, por su disponibilidad y apoyo.

A mis padres, Isidro y Valentina, y a mis hijas, Isabel y Sofía, por su confianza y apoyo.

A los compañeros que me han prestado su ayuda.

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación del Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI 03/0534) del Instituto de Salud Carlos III (Madrid) del Ministerio de Sanidad y Política Social.

A mi familia

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	13
1. INTRODUCCIÓN	15
1.1 Etimología del término “ <i>Coryne</i> ”	17
1.2 Bacterias corineformes y género <i>Corynebacterium</i> . Taxonomía.....	18
1.3 Género <i>Corynebacterium</i> . Descripción de especies	26
1.3.1 Especies relacionadas con la medicina humana. Patología asociada	54
1.3.2 Otras especies del género <i>Corynebacterium</i>	62
1.4 Identificación de especies del género <i>Corynebacterium</i>	65
1.4.1 Identificación fenotípica	65
1.4.2 Identificación genotípica	76
1.5 Sensibilidad de los organismos del género <i>Corynebacterium</i> a los antimicrobianos	82
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	87
2.1 Justificación	89
2.2 Objetivos	90
2.2.1 Objetivo general	90
2.2.2 Objetivos específicos.....	90
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	91
3.1 Muestras	93
3.1.1 Botellas de hemocultivo	94
3.1.2 Catéteres vasculares.....	97

3.2 Caracterización fenotípica	97
3.2.1 Métodos convencionales	97
3.2.2 Identificación con medios comerciales	98
3.3 Caracterización genotípica. análisis de la secuencia de la fracción de 16S del ADN ribosómico (16S rADN) y del gen <i>rpoB</i>	100
3.4 Estudio de sensibilidad a antimicrobianos.....	101
3.4.1 Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias y estudio de sensibilidad por técnica de difusión disco-placa	101
3.4.2 Estudio de fenotipos de resistencia a antimicrobianos del grupo MLS _B	103
3.4.3 Estudio de genotipos de resistencia a macrólidos. Detección de genes <i>erm</i> (X), <i>mef</i> (A) y <i>mef</i> (E)	103
3.5 Estudio clínico	106
3.5.1 Definiciones. Criterios de diagnóstico microbiológico	106
3.5.2 Evaluación del significado clínico de los aislamientos.	107
3.6 Análisis estadístico	108
4. RESULTADOS.....	111
4.1 Muestras positivas a corineformes y número de aislados	113
4.2 Caracterización fenotípica	125
4.2.1. API Coryne™ V2.0	125
4.2.2. API Coryne™ V2.0 más pruebas complementarias.	129
4.2.3. Biolog™ GP2.....	131
4.3. Comparación de resultados de la caracterización fenotípica y genotípica	134
4.4. Estudio de sensibilidad a antimicrobianos	140
4.4.1 Concentraciones Mínimas Inhibitorias (µg/mL) de 17 antibióticos frente a 247 aislados del género <i>Corynebacterium</i> y tasa de resistencia.....	140

4.4.2 Actividad <i>in vitro</i> de siete antimicrobianos frente a 247 aislados del género <i>Corynebacterium</i> determinada por técnica de difusión disco-placa.	149
4.4.3 Especies de <i>Corynebacterium</i> resistentes a antimicrobianos del grupo MLS _B . Fenotipos y genes de resistencia.	157
4.5 Estudio clínico-epidemiológico	162
4.5.1 Pacientes	162
4.5.2 Epidemiología, clínica, significado, tratamiento y evolución del aislamiento de organismos del género <i>Corynebacterium</i> . Descripción por especies.	165
4.5.3 Cultivos mixtos	201
4.5.4 Manipulación diagnóstico-terapéutica	204
4.5.5 Bacteriemias relacionadas con catéter vascular	206
4.5.6 Evolución y tratamiento	207
5. DISCUSIÓN	211
5.1. Datos microbiológicos	213
5.2. Datos clínico-epidemiológicos	246
6. CONCLUSIONES	279
7. BIBLIOGRAFÍA	283
ANEXO I	335
Ficha de recogida de datos	337
ANEXO II	339
Publicaciones relacionadas con el tema	341

ABREVIATURAS

αGLU: α-glucosidasa

βGAL: β-galactosidasa

βGUR: β-glucuronidasa

βNAG: N-acetil-β-glucosaminidasa

βGLU: β-glucosidasa

ACV: accidente cerebrovascular

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AFLP: Amplified fragment length polymorphism

ARN: Ácido ribonucleico

ATCC: American type culture collection

ARDRA: Amplified rDNA restriction analysis

BHI: Infusión corazón cerebro

BRC: Bacteriemia relacionada con catéter

CAMP: Prueba de Christie Atkins Munch Peterson

CA-SFM: Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CDC: Center for Diseases Control

CIP: Colección del Instituto Pasteur de cepas tipo

CLSI (antes NCCLS): Clinical and Laboratory Standards Institute (antes, National Committee for Clinical Laboratory Standards)

CMI: Concentración mínima inhibitoria

CMI₅₀: Concentración mínima inhibitoria frente al 50% de las cepas

CMI₉₀: Concentración mínima inhibitoria frente al 90% de las cepas

DNAsa: Desoxirribonucleasa

DTP3: Difteria, tétanos y tosferina, triple vacuna

E: Especificidad

IC95: Intervalo de confianza del 95%

IRC: Infección relacionada con catéter

ITS: Espacio intergénico

ITU: Infección del tracto urinario

LCR: Líquido cefalorraquídeo

M (Fenotipo): Bomba de expulsión

MLS_B: Macrólidos, lincosaminas y estreptograminas grupo B

cMLS_B: Fenotipo de resistencia constitutivo MLS_B

iMLS_B: Fenotipo de resistencia inducible MLS_B

NAG: N-acetil-glucosamina

OSCDP: Orificio de salida de catéter de diálisis peritoneal

PAAF: Punción aspiración con aguja fina

PAC: Fenilacetato

PAL: Fosfatasa alcalina

PFGE: Pulsed-field gel electrophoresis

OR: Odds Ratio

pb: Pares de bases

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

PyrA: Pirrolidonil arilamidasa

PYZ: Pirazinamidasa

RAPD: Random amplification of polymorphic DNA

RPLP: Restriction fragment length polymorphism

RPM: Rotura prolongada de membranas

S: Sensibilidad

SBA: Agar sangre de oveja

SEIMC: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida

SNC: Sistema nervioso central

TBSA: Ácido tuberculoesteárico

TD: Toxina diftérica

TSA: Agar tripticasa soja

UFC: Unidades formadoras de colonias

VPN: Valor predictivo negativo

VPP: Valor predictivo positivo

1. INTRODUCCIÓN

1.1 ETIMOLOGÍA DEL TÉRMINO “Coryne”

ΚΟΡΥΝΗ, ΗΣ

Κορύνη, ης

Palabra empleada por Homero en la *Ilíada* 7, 141, cuando Néstor, rey de Pilos, recuerda una lucha antigua entre los pilios y los arcadios junto al río Celadonte ante las murallas de Fea (ciudad entre la Élide y el reino de Pilo, al norte del río Alfeo) en la que destacó Ereutalión: vv. 136-141.

“Ereutalión se destacó en vanguardia, mortal igual a un dios,
con las armas del soberano Areítoo en los hombros.
Areítoo, de la casa de Zeus, al que, como apodo, macero
solían llamar los hombres y las mujeres, de bella cintura,
porque no luchaba ni con el arco ni con la larga lanza,
sino con la férrea maza, con la que destrozaba batallones.”

La palabra tiene que ver originariamente con el micénico κόρυς, “yelmo” (en las tablillas del silabario micénico el genitivo *koruto* y el plural instrumental *korupi*). A través de esta relación queda emparentado con un tipo de casco con cresta κορυδός, y con la palabra que significa “cabeza”, “cima de un monte” κόρυμβος o “mascarón de proa de un barco” κόρυμβα, y finalmente con el jefe del coro en las representaciones teatrales de la tragedia κορυφή. En sentido propio se refiere a diversos objetos naturales y artificiales de aspecto vagamente tubular con ensanchamientos o nudos. En el mundo natural designa los bulbos de las plantas, y el miembro viril. En la familia de palabras de ese sustantivo se registra el verbo denominativo κορυβάω “formar botones en forma de bulbo” (Chantraine, 1990).

En la *Ilíada* se emplea también con la acepción de “maza” (en el compuesto κορυνήζης, “portador de la maza”, que después modificaría Heródoto siguiendo la derivación clásica en κορυνηφόρος), pero parece tratarse de un arma de madera, con los nudos y defectos de una rama de árbol; podríamos imaginar un basto semejante al inseparable atributo de Hércules, en la iconografía bien difundida y divulgada sobre todo en el arte y la imprenta por el neoestoicismo a partir del Renacimiento.

1.2 BACTERIAS CORINEFORMES Y GÉNERO *Corynebacterium*. TAXONOMÍA

La terminología utilizada de difteromorfo, corineforme y corinebacteria es ambigua y puede conducir a confusión al hacer referencia, en general, a bacilos grampositivos.

“Difteromorfo”. Término genérico que hace referencia a bacterias de morfología similar a *Corynebacterium diphtheriae*, primero y más conocido patógeno humano de este género descrito por Kruse en 1886, agente causal de la difteria (Bernard, 2005; Funke y Bernard, 2007).

“Corineforme”. Término común y admitido por muchos microbiólogos utilizado para designar a bacilos grampositivos de morfología irregular, crecimiento aeróbico, no esporulados y no o parcialmente ácido-alcohol resistentes. No todas las bacterias corineformes pertenecen al género *Corynebacterium* spp. (Bernard, 2005; Funke y Bernard, 2007).

“Corinebacteria”. Bacterias que pertenecen al verdadero género *Corynebacterium* spp. que muestra una morfología típica en forma de maza, porra o bastón, término que deriva del griego antiguo “*coryne*” (Bernard, 2005; Funke y Bernard, 2007).

Aunque el término difteromorfo se sigue utilizando por algunos microbiólogos, las bacterias que con la tinción de Gram presentan una morfología similar a especies del género *Corynebacterium* (pertenezcan o no a este género), se definen mejor como “corineformes”.

Todos los géneros incluidos como bacterias corineformes pertenecen a la clase *Actinobacteria*, por poseer una secuencia específica del gen 16S ADN ribosomal (16S rADN). En las dos últimas revisiones taxonómicas (Bernard, 2005; Funke y Bernard, 2007) hay diferencias. En Bernard, 2005 se incluyen 14 géneros: *Corynebacterium*, *Turicella*, y otros 12 géneros de bacterias corineformes: *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Cellulomonas*, *Cellulosimicrobium*, *Curtobacterium*, *Dermabacter*, *Dermatophilus*, *Exiguobacterium*, *Leifsonia*, *Microbacterium* (que incluye al anterior *Aureobacterium*), *Oerskovia* y *Rothia*. En Funke y Bernard, 2007, se incluyen 19 géneros, diferenciándose de la anterior revisión en la no inclusión de *Dermatophilus* (Burd *et al.*, 2007) y en la inclusión de géneros nuevos: *Janibacter*, *Pseudoclavibacter/Zimmermannella*, *Brachibacterium* y *Knoellia*, y de *Gardnerella*, aunque se discute aparte. En la Tabla 1 se resume la evolución histórica de los cambios en la inclusión de géneros de bacterias corineformes desde 1997 a 2007.

Tabla 1. Bacterias corineformes: Reclasificaciones en la última década (1997-2007). Revisión bibliográfica.

Funke <i>et al.</i> , 1997e	Janda, 1998a	Funke y Bernard, 1999	Funke y Bernard, 2003	Bernard, 2005	Funke y Bernard, 2007
<i>Corynebacterium</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>Corynebacterium</i>
<i>Turicella</i>	<i>Turicella</i>	<i>Turicella</i>	<i>Turicella</i>	<i>Turicella</i>	<i>Turicella</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>Arthrobacter</i>	<i>Arthrobacter</i>	<i>Arthrobacter</i>	<i>Arthrobacter</i>	<i>Arthrobacter</i>
<i>Brevibacterium</i>	<i>Brevibacterium</i>	<i>Brevibacterium</i>	<i>Brevibacterium</i>	<i>Brevibacterium</i>	<i>Brevibacterium</i>
<i>Dermabacter</i>	<i>Dermabacter</i>	<i>Dermabacter</i>	<i>Dermabacter</i>	<i>Dermabacter</i>	<i>Dermabacter</i>
<i>Rothia</i>	<i>Rothia</i>	<i>Rothia</i>	<i>Rothia</i>	<i>Rothia</i>	<i>Rothia</i>
<i>Exiguobacterium</i>	<i>Exiguobacterium</i>	<i>Exiguobacterium</i>	<i>Exiguobacterium</i>	<i>Exiguobacterium</i>	<i>Exiguobacterium</i>
<i>Oerskovia</i>	<i>Oerskovia</i>	<i>Oerskovia</i>	<i>Oerskovia</i>	<i>Oerskovia</i>	<i>Oerskovia</i>
<i>Cellulomonas</i>	<i>Cellulomonas</i>	<i>Cellulomonas</i>	<i>Cellulomonas</i>	<i>Cellulomonas</i>	<i>Cellulomonas</i>
			<i>Cellulosimicrobium</i>	<i>Cellulosimicrobium</i>	<i>Cellulosimicrobium</i>
<i>Microbacterium</i>	<i>Microbacterium</i>	<i>Microbacterium</i>	<i>Microbacterium</i>	<i>Microbacterium</i>	<i>Microbacterium</i>
		<i>Curtobacterium</i>	<i>Curtobacterium</i>	<i>Curtobacterium</i>	<i>Curtobacterium</i>
" <i>Corynebacterium aquaticum</i> "		" <i>Corynebacterium aquaticum</i> "	<i>Leifsonia</i>	<i>Leifsonia</i>	<i>Leifsonia</i>
	<i>Arcanobacterium</i>	<i>Arcanobacterium</i>	<i>Arcanobacterium</i>		<i>Arcanobacterium</i>
<i>Aureobacterium</i>	<i>Aureobacterium</i>	<i>Aureobacterium</i>			
<i>Propionibacterium</i>	<i>Propionibacterium</i>				
<i>Propioniferax</i>	<i>Propioniferax</i>				
<i>Actinomyces</i>	<i>Actinomyces</i>				
<i>Sanguibacter</i>				<i>Dermatophilus</i>	
					<i>Janibacter</i>
					<i>Pseudoclavibacter</i>
					<i>/Zimmermannella</i>
					<i>Brachybacterium</i>
					<i>Knoellia</i>
		<i>Gardnerella*</i>	<i>Gardnerella*</i>		<i>Gardnerella*</i>

* Se incluye en esta clasificación pero se estudia separadamente.

Todos estos géneros descritos pertenecen al linaje de bacterias grampositivas, no esporuladas, con alto contenido en guanina y citosina (G+C), excepto *Exiguobacterium* y *Gardnerella*. En nuestro trabajo hemos considerado corineformes los organismos pertenecientes a los siguientes géneros: *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Dermabacter*, *Janibacter*, *Microbacterium*, *Rothia*, *Actinomyces*, *Dietzia*, *Gordona*, *Listeria*, *Mycobacterium* y *Rhodococcus*.

La diferenciación entre los géneros viene establecida por aspectos quimiotaxonómicos (principales ácidos grasos celulares, ácidos micólicos, ácido diamino peptidoglicano y tipo acil). Los ácidos micólicos, únicamente están presentes en la mayoría de las especies del género *Corynebacterium*. La diferenciación quimiotaxonómica ha sido confirmada por investigaciones filogenéticas. La taxonomía de las bacterias corineformes y género *Corynebacterium* en función

de la comparación de las secuencias de genes 16S rADN, características quimiotaxonómicas y fenotípicas (Bernard, 2005) se expone en la Tabla 2.

Los géneros *Corynebacterium* y *Turicella* son los más estrechamente relacionados. La diferencia entre ellos y el resto de bacterias corineformes radica en los ácidos grasos celulares, siendo en éstas últimas, saturados, de cadena larga y ramificada, con diferencias cualitativas importantes, así como en no producir productos finales de fermentación (Funke y Bernard, 2007). Por otro lado, la diferencia entre el género *Corynebacterium* y *Turicella* está en que en el género *Corynebacterium* se detecta la presencia de ácidos micólicos a excepción de tres especies (*C. amycolatum*, *C. atypicum* y *C. kroppenstedtii*) y ausencia de ácido tuberculoesteárico (TBSA) a excepción de algunas especies en que también está presente (*C. appendicis*, *C. bovis*, *C. confusum*, *C. kroppenstedtii*, algunas cepas de *C. minutissimum*, *C. mucifaciens*, *C. tuberculoestearicum*, *C. urealyticum* (Funke y Bernard, 2007) y *C. ureicelerivorans* (Yassin, 2007). En el género *Turicella*, está presente siempre el TBSA pero nunca ácidos micólicos.

La secuenciación de la fracción 16S rADN ha demostrado que el género *Corynebacterium* y *Turicella* están más estrechamente relacionados con bacterias parcialmente ácido-alcohol resistentes y el género *Mycobacterium* que otros organismos corineformes. El género *Arthrobacter* (bacilos con forma rectangular, articulación, del griego “*arthros*”), está muy relacionado con el género *Micrococcus* (cocos), y el género *Rothia* contiene bacilos (*R. dentocariosa*) y cocos (*R. mucilaginosus*, antes *Stomatococcus mucilaginosus*). Otros géneros que filogenéticamente están estrechamente relacionados son *Oerskovia*, *Cellulomonas* y *Cellulosimicrobium*. *Dermabacter* está ligeramente relacionado con *Arthrobacter* y *Micrococcus*. *Brevibacterium* forma otra línea de ascendencia diferenciada (Bernard, 2005; Funke y Bernard, 2007).

Tabla 2. Taxonomía de bacterias corineformes en función de la comparación de las secuencias de genes 16S rADN.

Clase	Subclase	Orden	Suborden	Familia	Género
Bacilli		Bacillales		Bacillaceae	<i>Exiguobacterium</i> Otros: <i>Bacillus</i> , <i>Halobacillus</i> , <i>Salibacillus</i> , <i>Virgibacillus</i> , <i>Amphibacillus</i> , <i>Anoxybacillus</i> , <i>Gracilbacillus</i> , <i>Saccharococcus</i> .
				Bifidobacteriales	<i>Bifidobacterium</i> , <i>Falcivibrio</i> , <i>Gardnerella</i>
		Bifidobacteriales		"sin denominación"	<i>Turcella</i> , <i>Actinobispora</i> , <i>Actinocorallia</i> , <i>Excelllospora</i> , <i>Peleczaria</i>
Actinobacteria	Actinobacteridae	Actinomycetales (10 subórdenes)	Actinomycineae	Actinomycetaceae	<i>Actinomyces</i> *, <i>Arcanobacterium</i> , <i>Actinobaculum</i> , <i>Mobiluncus</i>
			Corynebacterinae (7 familias)	Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i> *
				Dietziaceae	<i>Dietzia</i> *
				Gordoniaceae	<i>Gordonia</i> *, <i>Skermania</i>
				Mycobacteriaceae	<i>Mycobacterium</i> *
				Nocardiaceae	<i>Nocardia</i> , <i>Rhodococcus</i> *
				Tsukamurellaceae	<i>Tsukamurella</i>
				Williamsiaceae	<i>Williamsia</i>
			Frankineae	Geodermatophilaceae, Frankiaceae	<i>Geodermatophilus</i> , <i>Francis...</i>
			Glycomycetaneae Micrococccineae (13 familias)	Glycomycetaceae	<i>Glycomices</i>
				Brevibacteriaceae	<i>Brevibacterium</i> *
				Cellulomonadaceae	<i>Cellulomonas</i> , <i>Oerskovia</i>
				Dermabacteraceae	<i>Dermabacter</i> (<i>D. hominis</i>)*, <i>Brachybacterium</i>
				Dermatophilaceae	<i>Kytococcus</i>
				Microbacteriaceae	<i>Curtobacterium</i> , <i>Leifsonia</i> (<i>L. aquatica</i>) <i>Microbacterium</i> * (incluye <i>Aureobacterium</i>) Otros: <i>Agreia</i> , <i>Agrococcus</i> , <i>Agromyces</i> , <i>Clavibacter</i> , <i>Criobacterium</i> , <i>Gulosibacterium</i> , <i>Leucobacter</i> , <i>Mycetocola</i> , <i>Okibacterium</i> , <i>Plantibacter</i> , <i>Pseudoclavibacter</i> , <i>Rathayibacter</i> , <i>Rhodoglobus</i> , <i>Salinibacterium</i> ,
				Micrococcaceae	<i>Arthrobacter</i> *, <i>Rothia</i> *, <i>Kocuria</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Stomatococcus</i> , <i>Nesterenkonia</i> , <i>Penibacterium</i>
				Intrasporangiaceae	<i>Janibacter</i> *, <i>Knoellia</i> , <i>Terrabacter</i> , <i>Terracoccus</i> , <i>Tetrasphaera</i> , <i>Oryzihumus</i> , <i>Ornithinococcus</i> , <i>Ornithinimicrobium</i> , <i>Arsenicococcus</i> , <i>Intrasporangium</i> .
				Promicromonosporaceae	<i>Cellulosimicrobium</i>
				Bogoriellaceae	<i>Bogoriella</i>
				Rarobacteraceae	<i>Rarobacter</i>
				Sanguibacteraceae	<i>Sanguibacter</i>
				Dermacoccaceae	<i>Demetria</i> , <i>Dermacoccus</i> , <i>Kytococcus</i>
				Jonesiaceae	<i>Jonesia</i>
			Micromonosporineae	Micromonosporaceae	
			Propionibacterineae	Propionibacteriaceae	<i>Propionibacterium</i> , <i>Propionifera</i>
				Nocardioidaceae	<i>Nocardioides</i>
			Pseudinocardinae	Pseudonocardiaceae	
				Actinosynnemataceae	
			Streptomycineae	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>
			Streptosporangineae	Streptosporangiaceae, Nocardiopsaceae, Thermomonosporaceae	<i>Nocardiopsis</i> ...

En azul: Géneros incluidos como corineformes en la última reclasificación (Funke y Bernard, 2007) (Tabla 1). *Géneros identificados en este estudio.

Algunas especies del género *Corynebacterium* tienen su hábitat en el ambiente, pero la mayoría forman parte de la flora normal de piel y mucosas en humanos y otros mamíferos. No siempre se distribuyen de manera uniforme, en ocasiones ocupan nichos específicos. *C. diphtheriae* puede aislarse de la nasofaringe y de la piel. *C. amycolatum*, *C. striatum* y *D. hominis*, además de ser flora normal de la piel, también se aíslan de garganta en personas

sanas. *C. durum* y *R. dentocariosa* predominan en la orofaringe. *C. auris* y *T. otitidis* tienen preferencia por el conducto auditivo externo. *C. macginleyi* se ha aislado sobre todo de muestras oculares, donde se ha observado que la flora predominante de corinebacterias en la conjuntiva es lipófila. *C. glucuronolyticum* es casi exclusivo de muestras genitourinarias del hombre y también de animales. *C. urealyticum*, además de patógeno genitourinario, también se aísla en otras muestras clínicas y en el ambiente hospitalario (Bernard, 2005; Funke y Bernard, 2007).

Brevibacterium spp. ha sido aislado de productos lácteos y de piel en humanos. Especies del género *Arthrobacter* se aíslan con frecuencia en el suelo, pero *A. cummingsii* está presente en la piel humana. Miembros de los géneros *Exiguobacterium*, *Oerskovia*, *Cellulomonas*, *Cellulosimicrobium* y *Microbacterium* su hábitat es el ambiente inanimado. *Microbacterium* se ha aislado del ambiente hospitalario. *Curtobacterium* es también un fitopatógeno.

Todas las bacterias corineformes médicamente relevantes son catalasa positiva a excepción de las pertenecientes al género *Arcanobacterium* que es negativa y variable en los géneros *Rothia* y *Microbacterium*. La movilidad es variable y el metabolismo puede ser fermentativo u oxidativo (Bernard, 2005; Funke y Bernard, 2007). Estas características y las especies de cada uno de estos géneros con relevancia en clínica médica se exponen en la Tabla 3. El género *Corynebacterium* se trata en el apartado siguiente.

Tabla 3. Identificación de bacterias corineformes médicamente relevantes.

Géneros	Catalasa	Movilidad	Metabolismo	Núm. especies	Morfología	Otras características
<i>Corynebacterium</i>	+	-	F/O	68	BGP forma de maza ^a	Poseen ácidos micólicos ^b
<i>Turicella</i>	+	-	O	<i>T. otitidis</i>	BGP largos	Reacción CAMP positiva
<i>Arthrobacter</i>	+	V	O	20	CBGP rectangular	
<i>Brevibacterium</i>	+	-	O	8	BGP cortos	Olor semejante a queso
<i>Dermabacter</i>	+	-	F	<i>D. hominis</i>	BGP muy cortos	
<i>Rothia</i>	V	-	F	<i>R. dentocariosa</i> <i>R. mucilaginoso</i>	Pleomorfismo. Filamentación infrecuente	Familia <i>Micrococcaceae</i>
<i>Exiguobacterium</i>	+	+	F	2 ^c <i>E. acetylicum</i>	BGN cortos	Oxidasa positiva frecuente
<i>Oerskovia</i>	+	V	F	<i>O. turbata</i>	C o BGP filamentosos. Hifas vegetativas, no aéreas	Penetración en agar
<i>Cellulomonas</i>	+	V	F	9	BGP cortos y finos	Hidrolizan la celulosa excepto <i>C. hominis</i>
<i>Cellulosimicrobium</i>	+	V	F	<i>C. cellulans</i>	Micelio en cultivos jóvenes que más tarde se fragmente en BGP curvados, en maza	Estrecha relación, pero diferenciado de <i>Oerskovia</i> sp.
<i>Microbacterium</i>	V	V	F/O	40	BGP cortos y finos. No ramificación	Unificación de géneros <i>Microbacterium</i> y <i>Aureobacterium</i>
<i>Curtobacterium</i>	+	V ^d	O (lento)	6	BGP cortos. No ramificación	Patógeno en plantas y humano
<i>Leifsonia</i> ^e	+	+	O	<i>L. aquatica</i>	BGP	Oxidasa positiva
<i>Arcanobacterium</i>	-	-	F	<i>A. haemolyticum</i> <i>A. pyogenes</i> <i>A. bernardiae</i>	BGP irregulares	Muy relacionado con <i>Actinomyces</i> . Otras tres especies descritas (no en humanos)
<i>Janibacter</i>	+	-	O	<i>J. limosus</i> <i>J. sanguinis</i>	Gram variable: cocos o bacilos aislados, o agrupados en pares o grupos irregulares	Crecimiento óptimo a 25-30° C. Colonias blancas o amarillas
<i>Pseudoclavibacter</i> (2004)	+	-	O	<i>P. helvolum</i>	BGP cortos, ramificación rudimentaria	Crecimiento óptimo a 30° C. Colonias blancas o amarillas
<i>Brachybacterium</i>	+	-	F	2 aislados	cocoide	
<i>Knoellia</i>	+	-	O	1 aislado	Cocos o bacilos irregulares	Crecimiento óptimo en capnofilia (5% CO ₂) 37°C
<i>Gardnerella</i>	-	-	F lento	<i>G. vaginalis</i>	Bacilos o cocobacilos finos, decolorados	Crecimiento óptimo en capnofilia (5% CO ₂) 37°C

+: positiva; -: negativa; V: variable; O: oxidativo; F: fermentativo; BGP: bacilos Gram-positivos; CBGP: cocobacilos Gram-positivos; BGN: bacilos Gram-negativos. BCBGV: bacilos y cocobacilos Gram-variable; CGP: cocos Gram-positivos. ^a excepto: *C. matruchotii*, *C. durum* y *C. sundsvallense*. ^b excepto: *C. amycolatum*, *C. atypicum*, *C. kroppenstedtii*. ^c otra especie: *E. aurantiacum* (no en humanos). ^d la mayoría son móviles (Evtushenko *et al.*, 2000).

En las Tabla 4-6, se resume la taxonomía de las bacterias corineformes y su implicación en patología médica humana o el tipo de muestra clínica donde se han aislado (Bernard, 2005; Funke y Bernard, 2007).

Tabla 4. Bacterias corineformes: géneros con relevancia en patología médica humana: orden *Actinomycetales*, suborden *Micrococcineae*.

Clase Actinobacteria Subclase Actinobacteridae Orden Actinomycetales		
Suborden Micrococcineae (13 familias)		
Familia	Géneros/especies con relevancia médica	Clínica, localización, enfermedad asociada con infección.
<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Arcanobacterium bernardiae</i> <i>Arcanobacterium haemolyticum</i> <i>Arcanobacterium pyogenes</i>	Abscesos junto con flora anaerobia Faringitis, infección de heridas y tejidos blandos Infección de tejidos blandos. Abscesos.
<i>Brevibacteriaceae</i>	<i>Brevibacterium</i>	Endocarditis, peritonitis, bacteriemia, infección de oído y material protésico. Pies malolientes.
<i>Cellulomonadaceae</i>	<i>Cellulomonas</i> (antes, CDC grupo A-3)	LCR, bacteriemia, infección de herida
	<i>Oerskovia</i>	Endocarditis, bacteriemias, abscesos
<i>Dermabacteraceae</i>	<i>Dermabacter</i> (<i>D. hominis</i>) (antes, CDC grupos 3 y 5) <i>Brachybacterium</i>	Bacteriemia, absceso cerebral, hepático y de mama, LCR, Infección respiratoria y de herida, artritis séptica y peritonitis. Bacteriemia (2 aislados)
<i>Intrasporangiaceae</i>	<i>Janibacter</i> <i>Knoellia</i>	Bacteriemia Bacteriemia (1 aislado)
<i>Microbacteriaceae</i>	<i>Curtobacterium</i>	Sangre, LCR, infección de herida, aspirado de rodilla. Además de fitopatógeno.
	<i>Leifsonia</i> (<i>L. aquatica</i>) (antes, <i>C. aquaticum</i>)	Sangre, senos paranasales
	<i>Microbacterium</i> (antes, CDC grupos A-4 y A-5) Incluye <i>Aureobacterium</i> en la actualidad.	Bacteriemia, endoftalmitis, médula ósea, LCR, infección de herida, infección de cuerpo extraño Bacteriemia, infección de orina y herida
	<i>Pseudoclavibacter</i> (antes, <i>Brevibacterium helvolum</i>). Género posterior, <i>Zimmermannella</i> , es sinónimo.	
<i>Micrococcaceae</i>	<i>Arthrobacter</i>	Bacteriemia, endocarditis, endoftalmitis, poliartritis, infección tracto urinario, infección de cuerpo extraño.
	<i>Rothia</i>	Aneurisma micótico, bacteriemia, endocarditis, infección respiratoria.
<i>Promicromonosporaceae</i>	<i>Cellulosimicrobium</i> (antes, CDC grupo A-4 y <i>Oerskovia xanthineolytica</i>)	Endocarditis, bacteriemia, infección cuerpo extraño.

Tabla 5. Bacterias corineformes: géneros con relevancia en patología médica humana: orden *Bifidobacteriales*.

Clase <i>Actinobacteria</i> Subclase <i>Actinobacteridae</i> Orden <i>Bifidobacteriales</i>		
Familia	Géneros/especies con relevancia médica	Clínica, localización, enfermedad asociada con infección.
<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Turicella otitidis</i> <i>Gardnerella vaginalis</i>	Otorrea. Bacteriemia. Vaginosis bacteriana. Bacteriemia postparto o aborto. Endometritis. Flora normal vaginal y anorrectal en ambos sexos.

Tabla 6. Bacterias corineformes: géneros con relevancia en patología médica humana: orden *Bacillales*.

Clase "<i>Bacilli</i>" Orden <i>Bacillales</i>		
Suborden <i>Bacillales</i> (bacilos Grampositivos predominantemente esporulados como el género <i>Bacillus</i> , no incluido como corineforme)		
Familia	Géneros/especies con relevancia médica	Clínica, localización, enfermedad asociada con infección.
<i>Bacillaceae</i>	<i>Exiguobacterium</i> (<i>E. acetylicum</i>) (antes, <i>Brevibacterium acetylicum</i>)	Piel, heridas, LCR, Bacteriemia.

1.3 GÉNERO *Corynebacterium*. DESCRIPCIÓN DE ESPECIES

El género *Corynebacterium* fue descrito por Lehmann y Neumann en 1896. Su filogenia es:

Dominio: "Bacteria"

División: "Actinobacteria"

Clase: *Actinobacteria*

Subclase: *Actinobacteridae*

Orden: *Actinomycetales*

Suborden: *Corynebacterineae*

Familia: *Corynebacteriaceae*

Género: *Corynebacterium*

Especies: 68, 44 aisladas en humanos y 24 en huéspedes no humanos.

Dos subespecies: *C. afermentans* subsp. *afermentans* y *C. afermentans* subsp. *lipophilum*.

Cuatro biotipos de *C. diphtheriae*: *gravis*, *mitis*, *belfanti* e *intermedius*. Dos biovar: en *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis* y *C. pseudotuberculosis* biovar *equi*.

Dos subgrupos en *C. coyleae*: subgrupo 1 y 2 (Van den Velde *et al.*, 2006)

Taxones: CDC gr F1 taxón 1 y CDC gr F1 taxón 2. *C. ulcerans* 1 y *C. ulcerans* 2. *C. xerosis* 1 y *C. xerosis* 2. (Riegel *et al.*, 1995c).

Disponible en <http://www.bacterio.cict.fr/c/corynebacterium.html>.

La diferenciación entre el género *Corynebacterium* de otras bacterias corineformes está en la positividad de la catalasa, la negatividad de la motilidad, citrato, hidrólisis de gelatina y esculina (excepto *C. kroppenstedtii* y en algunas cepas de *C. aurimucosum*, *C. durum*, *C. matruchotii* y *C. glucuronolyticum*), oxidasa (excepto *C. bovis*), así como en las características morfológicas.

La tinción de Gram muestra bacilos grampositivos irregulares ligeramente curvados con lados no paralelos y a veces con extremos ensanchados, dando el típico aspecto de maza. Sólo tres auténticas especies muestran un inusual aspecto, "no-coryne", sino filamentoso, curvado, con ensanchamiento en uno de los extremos: *C. matruchotii* (como un látigo), *C. durum* y *C. atypicum*, o protuberancias en los extremos como *C. sundsvallense*. Si la tinción se

realiza a partir de medios líquidos, las corinebacterias aparecen como células aisladas, en pares, forma de uve, empalizada o agrupadas formando letras chinas (Figura 1).

Figura 1. Tinción de Gram (izda.) y microscopía de barrido (dcha.) de *Corynebacterium* spp.



Este género incluye especies con metabolismo fermentativo y no fermentativo u oxidativo. Algunas especies son lipófilas, es decir, requieren la presencia de lípidos para su desarrollo en medios de cultivo.

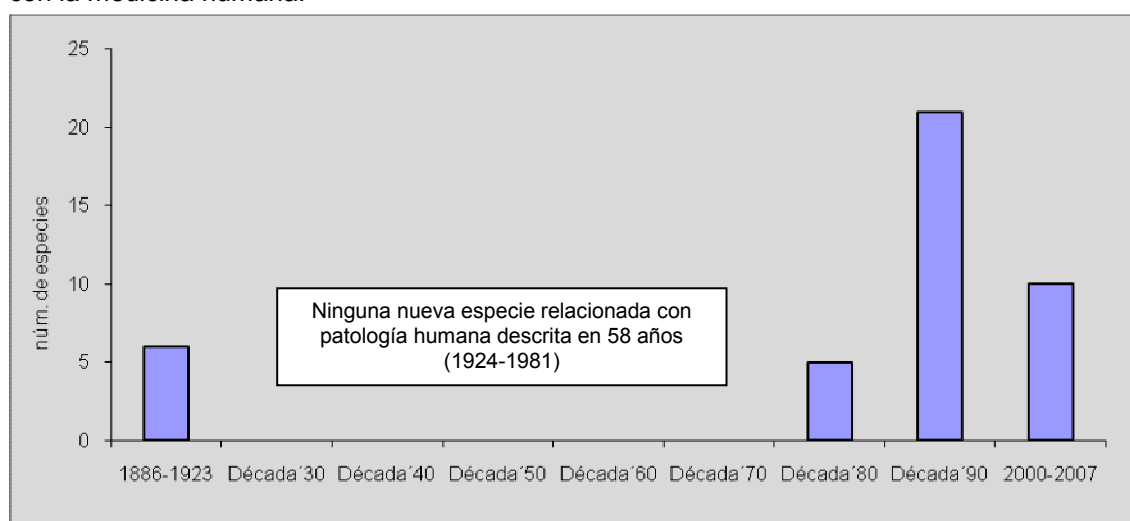
Desde el punto de vista quimiotaxonómico, las bacterias del género *Corynebacterium* contienen en su pared arabinosa, galactosa y ácido *meso*-diaminopimélico (*m*-DAP), ácidos micólicos de cadena corta con 22 a 36 átomos de carbono, a excepción de *C. amycolatum*, *C. atypicum* y *C. kroppenstedtii*. Los principales ácidos grasos celulares son el ácido palmítico ($C_{16:0}$), oleico ($C_{18:1\omega 9c}$) y esteárico ($C_{18:0}$) y TBSA que puede encontrarse en algunas especies como *C. appendicis*, *C. bovis*, *C. confusum*, *C. kroppenstedtii*, algunas cepas de *C. minutissimum*, *C. mucifaciens*, *C. tuberculoestearicum*, *C. urealyticum* (Funke y Bernard, 2007) y *C. ureicelerivorans* (Yassin, 2007).

El género *Turicella* es más próximo al género *Corynebacterium*. Los principales ácidos grasos celulares son los mismos que para *Corynebacterium*. Contiene una única especie, *T. otitidis*, que contiene TBSA (2 a 10% de estos ácidos grasos) y reacción CAMP positiva como algunas especies *Corynebacterium*.

El contenido habitual de guanina más citosina (G+C) en el ADN del género *Corynebacterium* está en un rango entre 51 y 63 mol %, pero varía desde 46 mol % (en *C. kitcheri*) a 74 mol % (en *C. auris*), indicando la gran diversidad de este género. La relación filogenética fue establecida en 1995 (Ruimy *et al.*, 1995; Pascual *et al.*, 1995) creándose una amplia base de datos para futuros estudios comparativos de la secuenciación del gen 16S rADN, y poder incluir o excluir miembros en este género.

Para la identificación de especies se utilizan tres tipos de técnicas (Janda, 1999; Bernard *et al.*, 2002): i) fenotípicas: características de cultivo, asimilación/fermentación de carbohidratos y pruebas enzimáticas. Existen sistemas comerciales para la caracterización bioquímica y en ocasiones es necesario además recurrir a pruebas individuales complementarias, ii) quimiotaxonómicas, y iii) genéticas: la más utilizada es la secuenciación de 16S rARN. La cronología en su identificación se recoge en la Figura 2 y Tabla 7.

Figura 2. Cronología de la descripción de especies del género *Corynebacterium* relacionadas con la medicina humana.



Atendiendo al origen de las especies del género *Corynebacterium* reconocidas actualmente: i) han sido aisladas 44 especies de muestras clínicas humanas causando enfermedad o sin asociación a patología (Tabla 7), ii) de animales, mamíferos y aves, se han aislado 25 especies; 10 de ellas comunes en humanos, iii) y 14 especies de vegetales y/o muestras ambientales cinco de ellas comunes en humanos (se expone en apartado 1.3.2. Otras especies del género *Corynebacterium*).

Tabla 7. Cronología en la identificación de especies del género *Corynebacterium* con relevancia en patología infecciosa humana.

Orden	Intervalo de tiempo (núm. nuevas especies)	Especie del género <i>Corynebacterium</i>	Referencia bibliográfica
Años 1886-1923 (6)			
1		<i>C. diphtheriae</i>	Kruse 1886. Lehmann y Neumann 1896.
2		<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	Lehmann y Neumann 1896.
3		<i>C. xerosis</i> *	Lehmann y Neumann " <i>Bacterium xerosis</i> ", 1896
4		<i>C. pseudotuberculosis</i> *	Ebersson, 1918 (Buchanan 1911. " <i>Bacillus pseudotuberculosis</i> ")
5		<i>C. striatum</i>	Ebersson, 1918. (Chester 1901. " <i>Bacterium striatum</i> ").
6		<i>C. bovis</i> *	Bergey <i>et al.</i> , 1923
Años 1982-1988 (5)			
7		<i>C. matruchotii</i>	Collins <i>et al.</i> , 1982 (Mendel 1919. " <i>Bacterionema matruchotii</i> ")
8		<i>C. minutissimum</i> *	(Collins y Jones, 1983). Yassin <i>et al.</i> , 2002
9		<i>C. mycetoides</i> *	Collins (ex Castellani 1942), 1983
10		<i>C. jeikeium</i> *	Jackman <i>et al.</i> , 1987
11		<i>C. amycolatum</i> *	Collins <i>et al.</i> , 1988
Años 1990-1999 (23)			
12		<i>C. accolens</i>	Neubauer <i>et al.</i> , 1991
13		<i>C. urealyticum</i> *	Pitcher <i>et al.</i> , 1992
14		<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> <i>C. afermentans</i> subsp. <i>lipophilum</i>	Riegel <i>et al.</i> , 1993a
15		<i>C. propinquum</i>	Riegel <i>et al.</i> , 1993b
16		<i>C. argenteratense</i>	Riegel <i>et al.</i> , 1995a
17		<i>C. glucuronolyticum</i> ^a *	Funke <i>et al.</i> , 1995a
18		<i>C. auris</i>	Funke <i>et al.</i> , 1995b
19		<i>C. macginleyi</i>	Riegel <i>et al.</i> , 1995c
20		CDC gr F1	Riegel <i>et al.</i> , 1995c
21		CDC gr G	Riegel <i>et al.</i> , 1995c
22		<i>C. ulcerans</i> *	Riegel <i>et al.</i> , 1995d
23		<i>C. coyleae</i>	Funke <i>et al.</i> , 1997a
24		<i>C. durum</i>	Riegel <i>et al.</i> , 1997a
25		<i>C. imitans</i>	Funke <i>et al.</i> , 1997b
26		<i>C. lipophiloflavum</i>	Funke <i>et al.</i> , 1997c
27		<i>C. mucifaciens</i>	Funke <i>et al.</i> , 1997d
28		<i>C. singulare</i>	Riegel <i>et al.</i> , 1997b
29		<i>C. confusum</i>	Funke <i>et al.</i> , 1998a
30		<i>C. falsenii</i> *	Sjödén <i>et al.</i> , 1998
31		<i>C. kroppenstedtii</i>	Collins <i>et al.</i> , 1998
32		<i>C. riegelii</i>	Funke <i>et al.</i> , 1998b
33		<i>C. thomsseni</i> *	Zimmermann <i>et al.</i> , 1998
34		<i>C. sundsvallense</i>	Collins <i>et al.</i> , 1999
Años 2000-2007 (10)			
35		<i>C. simulans</i>	Wattiau <i>et al.</i> , 2000
36		<i>C. freneyi</i> ^b	Renaud <i>et al.</i> , 2001
37		<i>C. aurimucosum</i> ^c	Yassin <i>et al.</i> , 2002a
38		<i>C. appendicis</i>	Yassin <i>et al.</i> , 2002b
39		<i>C. atypicum</i>	Hall <i>et al.</i> , 2003
40		<i>C. tuberculoestearicum</i> *	Feurer <i>et al.</i> , 2004
41		<i>C. resistens</i>	Otsuka <i>et al.</i> , 2005
42		<i>C. tuscaniae</i>	Riegel <i>et al.</i> , 2006
43		<i>C. hansenii</i>	Renaud <i>et al.</i> , 2007
44		<i>C. ureicelerivorans</i>	Yassin <i>et al.</i> , 2007

*Aislamiento no exclusivo en humanos (13 especies). ^aSinónimo de *C. seminale* (Riegel *et al.*, 1995b). ^bEnmendado por Funke y Frodl, 2008. ^cSinónimo de *C. nigricans* y bacterias con pigmentación negra CDC grupo 4 (Shukla *et al.*, 2003; Daneshvar *et al.*, 2004)

De las 68 especies de corinebacterias descritas en total: 31 se han aislado de forma exclusiva en humanos, 24 nunca en humanos (15 solo en animales y 9 solo en vegetales o ambiente) y 14 en humanos y además en animales o vegetales y/o ambiente, que se exponen a continuación:

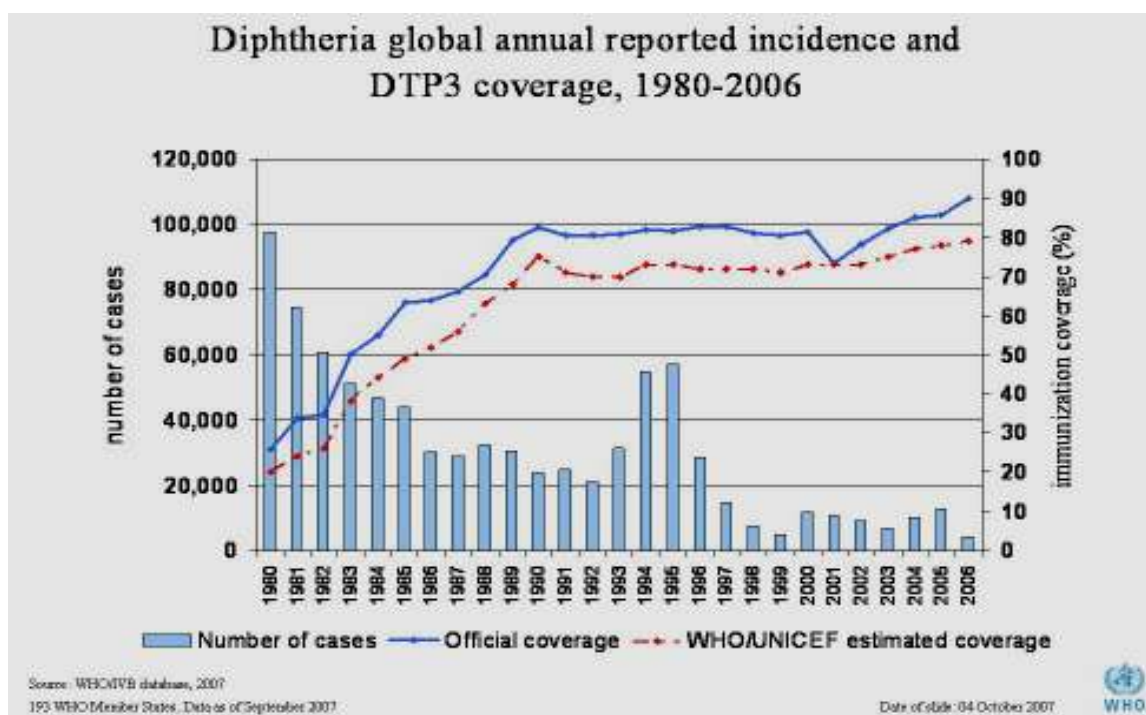
- C. amycolatum* (mastitis en vaca) (Hommez *et al.*, 1999),
- C. bovis* (pielonefritis y mastitis en bóvidos) (Martínez-Martínez, 1998; Watts y Rossbach, 2000; Dutly *et al.*, 2003),
- C. falsenii* (tracto respiratorio de águila) (Fernández- Garayzábal *et al.*, 2003),
- C. jeikeium* (ITU gato, ambiente hospitalario) (Puskar *et al.*, 2007; Rosato *et al.*, 2001; Tauch *et al.*, 2005),
- C. glucuronolyticum*: (cerdo) (Devriese *et al.*, 2000),
- C. minutissimum* (mastitis en vaca) (Hommez *et al.*, 1999),
- C. mucifaciens* (polvo del ambiente en granjas) (Korthals *et al.*, 2008),
- C. mycetoides* (plantas) (Mungelluzzi y Caprilli, 1965),
- C. pseudotuberculosis* (équidos, bóvidos, óvidos) (Peel *et al.*, 1997; Hommez *et al.*, 1999),
- C. thomsssenii* (ambiental, muestra de aire) (Bernard *et al.*, 2002)
- C. tuberculoestearicum* (atún enlatado y polvo del ambiente en granjas) (Feurer *et al.*, 2004; Korthals *et al.*, 2008),
- C. ulcerans* (mastitis en vaca (Hommez *et al.*, 1999), exudado nasofaríngeo de perro (Lartigue *et al.*, 2005) y gato (De Zoysa *et al.*, 2005),
- C. urealyticum* (cistitis incrustante en perros y gatos (Gómez *et al.*, 1995; Bailiff *et al.*, 2005), infección nosocomial por transmisión aérea y contacto (Nieto *et al.*, 1996; Soriano y Tauch, 2008) y
- C. xerosis* (cerdo y cabra) (Vela *et al.*, 2006).

Desde la descripción de *C. diphtheriae* en 1886, primera especie que da nombre a un conjunto de bacterias de morfología similar con el término de “difteroides”, hasta la década de los años 80 del siglo pasado, sólo se reconocieron como patógenos humanos seis especies que aún siguen vigentes (Tabla 7). *C. diphtheriae*, había sido eliminado en los países

desarrollados del oeste europeo debido a la incorporación en el calendario vacunal infantil; sin embargo, se han descrito casos aislados en relación con pacientes inmunosuprimidos y brotes de enfermedad invasiva producidos por cepas no toxigénicas en los países del este europeo (Martínez-Martínez, 1998) con la importancia que deriva de ello en la actualidad el movimiento poblacional desde estos países. En la década de los 90, se produjo una epidemia de difteria en la Federación Rusa, poniendo de nuevo el foco de atención a nivel global en esta enfermedad (De Zoysa *et al.*, 2008). En la Figura 3 se representa la incidencia de casos declarados de difteria y la estimación de la vacunación (DTP3) desde el año 1980 hasta octubre de 2007. En el año 2006 se declararon 3.978 casos, una estimación del 79% de cobertura vacunal.

Disponible en: http://www.who.int/immunization_monitoring/diseases/diphtheria/en/index.html

Figura 3. Incidencia de casos declarados de difteria y estimación de vacunación nivel mundial desde el año 1980.



Se han descrito infecciones por cepas no toxigénicas de *C. diphtheriae* aisladas en faringe y lesiones cutáneas en el Reino Unido, éstas últimas en pacientes de procedencia de áreas endémicas (Wren y Shetty, 2005). Estos autores apuntan que la incidencia universal puede ser no real debido a que la detección sistemática de este microorganismo no sea una

técnica de rutina en todos los laboratorios. Aislamiento de cepas no toxigénicas en infecciones (como endocarditis) en grupos marginales en Europa occidental (Gubler *et al.*, 1998).

Se han comparado cuatro métodos moleculares, para monitorizar la expansión de *C. diphtheriae*, como patógeno emergente a nivel mundial. El método de elección, por su alta reproducibilidad y capacidad discriminatoria fue el ribotipado, frente a PFGE, AFLP y RAPD. Se observaron varios genotipos de *C. diphtheriae* circulantes en los diferentes continentes y cada brote fue causado por un clon distinto; los ribotipos observados en Europa fueron distintos a los de otros lugares e, incluso, algunos aparecen solo en un determinado país (De Zoysa *et al.*, 2008).

C. bovis, *C. pseudotuberculosis* y *C. xerosis* pueden ser patógenos animales y humanos (salto interespecie) y por otra parte, *C. xerosis* y *C. striatum* están de actualidad, tanto por la problemática de su correcta identificación (Renaud *et al.*, 2001; Letek *et al.*, 2006) como por su incidencia, repercusión clínica y aparición de resistencias a antimicrobianos (Otsuka *et al.*, 2006).

Ninguna nueva especie de corinebacteria reconocida como patógeno humano se describió en 58 años (1924-1981) (Figura 2).

En la década de los años 80 del pasado siglo, se describieron cinco especies. *C. matruchotii* y *C. mycetoides* (esta última también aislada de plantas) son infrecuentemente patógenos humanos. *C. minutissimum* es motivo de publicaciones por su implicación clínica, dudosa asignación como causa de eritrasma, así como por su problemática identificación fenotípica debido a la semejanza que presenta con otras corinebacterias como *C. aurimucosum* (Khamis *et al.*, 2004) y *C. singulare* (Riegel *et al.*, 1997b), con las que tiene además un alto porcentaje de semejanza genotípica (98,7% y 99,1% respectivamente). Pero son *C. amycolatum* y *C. jeikeium*, ambas descritas en 1988, dos de las especies que han sido objeto de mayor número de publicaciones. *C. amycolatum* es una de las especies aisladas con mayor frecuencia de muestras clínicas (Wauters *et al.*, 1998), y ambas han destacado por la resistencia a múltiples antibióticos (Riegel *et al.*, 1994; Esteban *et al.*, 1999; Tauch *et al.*, 2005).

Ha sido a partir de la década de los años 90 coincidiendo, por una parte, con el desarrollo e implementación de nuevas técnicas quimiotaxonómicas y moleculares en los laboratorios de Microbiología, y por otra parte, con el reconocimiento y valoración del

microbiólogo clínico de las corinebacterias aisladas en muestras clínicas humanas, cuando se han descrito el mayor número de especies. Otras han sido reclasificadas o reasignadas como ocurrió con la descripción de *C. seminale* (Riegel *et al.*, 1995b) que posteriormente se reconoció como sinónimo de *C. glucuronolyticum* descrito poco tiempo antes (Funke *et al.*, 1995a), la descripción de *C. aurimucosum* como nueva especie y enmendar la descripción de otra especie estrechamente relacionada con ella, *C. minutissimum* (Yassin *et al.*, 2002a), y establecer como sinónimo de ella a *C. nigricans*, previamente descrita (Shukla *et al.*, 2003), y bacterias fermentativas con pigmentación negra CDC gr 4 (Daneshvar *et al.*, 2004), así como la más reciente descripción ampliada de *C. freneyi*, (Renaud *et al.*, 2001; Funke y Frodl, 2008) (Tabla 7).

Desde comienzo del siglo XXI, se han descrito 10 nuevas especies, las dos más recientes: *C. hansenii* (Renaud *et al.*, 2007), fermentativa no lipófila con rasgos genotípicos y fenotípicos semejantes a *C. xerosis*, y *C. ureicelerivorans* (Yassin, 2007), lipófila y de crecimiento lento con perfil bioquímico semejante a *C. urealyticum* y *C. appendicis*, que destaca por su potente capacidad ureásica.

Por otra parte, en esta primera década del siglo XXI, se ha secuenciado el genoma completo de cinco corinebacterias: *C. diphtheriae* (Cerdeño-Tárraga *et al.*, 2003), *C. jeikeium* (Tauch *et al.*, 2005), *C. urealyticum* (Tauch *et al.*, 2008), *C. kroppenstedtii* (Tauch *et al.*, 2008) y *C. aurimucosum* (Tauch, 2008, comunicación personal).

DESCRIPCIÓN DE ESPECIES

Se describen las características microbiológicas más destacables de cada una de las 45 especies, mencionadas por orden alfabético.

C. accolens (Neubauer *et al.*, 1991). Lipófila. Fermentativa. En la última clasificación de difteromorfos lipófilos (Riegel *et al.*, 1995c) se han establecido cinco genopecies de las cuales solo dos muestran la homogeneidad suficiente para definir las a nivel de especies: la geno especie II como *C. accolens*, y la geno especie III como *C. macginleyi*. El resto incluiría distintos grupos de organismos donde se encontrarían los grupos G2, parte del grupo G1 y F1 del CDC. Presenta colonias convexas, pequeñas, y satelitismo en torno a colonias de

Staphylococcus aureus. Es negativa la reacción de fosfatasa alcalina (PAL) y variable la pirazinamidasa (PYZ). Sensible a antibióticos de amplio espectro.

C. afermentans* subsp. *afermentans (Riegel *et al.*, 1993a). No lipófila. Oxidativa. Colonias blanquecinas, convexas, cremosas. Reacción de CAMP positiva en el 60% de las cepas. Presenta un perfil API 2100004 que es común para *C. auris* (consistencia de las colonias ligeramente adherentes), *T. otitidis* (morfología de las células, más largas en la tinción de Gram) y *C. afermentans* subsp. *lipophilum* (lipófila). Puede confundirse con *C. coyleae*, (fermentador de glucosa y ribosa), si la incubación no se prolonga 48 h. Es sensible a antibióticos betalactámicos.

C. afermentans* subsp. *lipophilum (Riegel *et al.*, 1993a). Lipófila. Oxidativa. Única corinebacteria lipófila que puede dar positiva la reacción de CAMP. No está incluida en la base de datos del sistema API Coryne y tiene el mismo perfil API y de sensibilidad antibiótica que *C. afermentans* subsp. *afermentans*.

C. amycolatum (Collins *et al.*, 1988). No lipófila. Fermentativa. Colonias secas, de aspecto encerado, gris blanquecino, con bordes irregulares y de 1 a 2 mm de diámetro a las 24 h de incubación. Es destacable la variabilidad en las reacciones bioquímicas básicas, como la reducción de nitratos, capacidad ureásica, α -glucosidasa (α GLU) y la producción de ácido a partir de maltosa y sucrosa. No se identifica como especie independiente en el sistema API Coryne, sino como *C. striatum/amycolatum* con posibilidad de *C. minutissimum*. Para la discriminación de *C. amycolatum* con *C. striatum* y *C. minutissimum* (y *C. aurimucosum*, de perfil bioquímico muy parecido al de *C. minutissimum* pero con colonias amarillentas y pegajosas en medio de cultivo con sangre, o pigmentación negra, o sin coloración en TSA sin sangre), además de la morfología de las colonias, son necesarias pruebas complementarias. (Wauters *et al.*, 1998) (Tabla 8). También es necesario establecer el diagnóstico diferencial con otras corinebacterias con quien comparte semejanzas morfológicas, bioquímicas y proximidad filogenética: *C. xerosis*, *C. freneyi* y *C. hansenii* (Renaud *et al.*, 2007) (Tabla 9). Para la identificación de certeza es necesario recurrir a técnicas moleculares (identificación polifásica) (Vandamme *et al.*, 1996).

Tabla 8. Discriminación fenotípica entre *C. amycolatum*, *C. striatum* y *C. minutissimum*: pruebas complementarias útiles junto con API Coryne.

	<i>C. amycolatum</i>	<i>C. striatum</i>	<i>C. minutissimum</i>
Aspecto colonias	Secas, enceradas	Húmedas, cremosas	Húmedas, cremosas
Bordes	Estriados	Lisos	Lisos
Reducción de nitratos	V	+	-
Crecimiento en agar sangre a 20°C / 3 d	-	+	-
Fermentación glucosa 42°C / 3 d	+	+	+
α- glucosidasa	(-) ^a	-	-
Factor vibriostático 0 / 129 ^b (150 µg)	R	S	S
Hidrólisis de tirosina	-	+	+
DNAsa	-	-	+
Multirresistencia antibiótica ^b	Si	V	No
Asimilación de			
maltosa	+	-	+
NAG	-	-	+
PAC	-	+	+

Reacción positiva: +, negativa: -, variable: V. Resistente: R. Sensible: S. ^a La mayoría es negativa, un escaso número de cepas puede ser positiva (-). ^b La mayoría de las cepas.

Tabla 9. Rasgos y pruebas fenotípicas para discriminar cuatro corinebacterias fermentativas no lipófilas, de colonias secas, pequeñas y bordes irregulares.

	<i>C. amycolatum</i>	<i>C. xerosis</i>	<i>C. hansenii</i>	<i>C. freneyi</i>
Morfología de colonias	Enceradas, blanco-grisáceas	Rugosas, amarillenta	Rugosas, amarillenta	Rugosas, plegadas, blanco-grisáceas y amarillenta
Reducción de Nitratos	V	V	-	V
Fosfatasa alcalina	+	+	-	+
α- glucosidasa	(-) ^b	(+) ^c	-	+
Ureasa	V	-	-	-
Crecimiento en agar sangre a 20°C / 3 d	-	+	+	+
Fermentación glucosa 42°C / 3 d	+	-	-	+
Factor vibriostático 0/129 (150 µg)	R ^d	S ^d	S ^d	S ^d
Multirresistencia antibiótica	+	-	-	-
Asimilación de maltosa	+	+	-	+

Reacción positiva: +, negativa: -, variable: V. Resistente: R. Sensible: S. ^b La mayoría es negativa, un escaso número de cepas puede ser positiva (-). ^c La mayoría es positiva, un escaso número de cepas puede ser negativa (+). ^d La mayoría de las cepas.

Todas las cepas producen ácido propiónico como producto predominante del metabolismo de la glucosa. En contraste con otras corinebacterias, el fosfolípido predominante es el fosfatidilglicerol, no tiene ácidos micólicos y presenta una reacción débil de leucin arylamidasa. La multirresistencia antibiótica, rasgo frecuente en aislados de *C. amycolatum* de procedencia humana, puede ser útil en su identificación (Bernard, 2005). En los aislados de

procedencia animal (mastitis bovina), el nivel de resistencia a antibióticos es más bajo (Watts y Rossbach, 2000).

C. appendicis (Yassin *et al.*, 2002b). Lipófila. Anaerobio facultativo. Colonias muy pequeñas, secas y grisáceas en agar sangre Columbia. Tiene capacidad ureásica y produce ácido del glicerol. La producción de ácido a partir de glucosa y maltosa es lenta y débil; dependiendo del sistema comercial utilizado puede variar entre tres y siete días. Son positivas las pruebas de PAL y PYZ, y negativas las pruebas de reducción de nitratos, hidrólisis de esculina, gelatina e hipurato. Las pruebas para discriminar esta especie del resto de corinebacterias lipófilas con capacidad ureásica se exponen en Tabla 10. El lactato es el producto final predominante de la fermentación de la glucosa. Contiene ácidos micólicos y el contenido G+C de su ADN es de $65,8 \pm 0,1$ mol %. Contiene TBSA. Las especies con mayor proximidad filogenética son *C. afermentans*, *C. coyleae* y *C. lipophiloflavum* con 97- 97,1% de semejanza en las secuencias del gen 16S rADN.

Tabla 10. Corinebacterias lipófilas con capacidad ureásica: pruebas fenotípicas útiles para su discriminación.

	<i>C. appendicis</i>	CDC gr F1	<i>C. lipophiloflavum</i>	<i>C. urealyticum</i>	<i>C. ureicelerivorans</i>
Metabolismo	Fermentativo lento (3-7d)	Fermentativo	Oxidativo	Oxidativo	Fermentativo lento (3 d)
Morfología de las colonias	Puntiformes, grises	Pequeñas, gris-blancuecinas	Amarillas	Puntiformes, gris-blancuecinas	Pequeñas, secas
Reducción de nitratos	-	V	-	-	-
Capacidad ureásica	Menos rápida	Menos rápida	Débil	Rápida	Muy rápida (60 seg)
Pirazinamidasa	+	+	+	+	+
Fosfatasa alcalina	+	-	+	+	+
Producción de ácido a partir de:					
glucosa	(+ ^a)	+	-	-	+
maltosa	(+ ^a)	+	-	-	-
sucrosa	-	+	-	-	-
TBSA	+	-	-	+	+
Resistencia antibiótica (frecuente)	nd (1 cepa)	Macrólidos	No multiresistencia	Multiresistencia	nd
Hipurato (hidrólisis)	-	-	-	-	+

Reacción positiva: +, negativa: -, variable: V.^a Reacción lenta. No datos: nd.

C. argentoratense (Riegel *et al.*, 1995a). No lipófila. Fermentativa. Colonias color crema, no hemolíticas, ligeramente rugosas. CAMP negativa. Las escasas cepas de *C. coyleae* ribosa-

negativa, se diferencian por la lenta fermentación de la glucosa, reacción CAMP positiva y colonias húmedas. Las cepas que expresan actividad α -quimotripsina, observada en API ZYM (bioMérieux), son las más relevantes desde el punto de vista médico. Se detecta ácido propiónico como producto del metabolismo de la glucosa. Filogenéticamente está estrechamente relacionado con *C. diphtheriae*, pero no produce TD.

C. atypicum (Hall *et al.*, 2003). No lipófila. Fermentativa. Anaerobio facultativo. En medio de agar Columbia con 5% de sangre de caballo a las 48 h de incubación crecen colonias puntiformes, convexas, brillantes, blancas, de bordes lisos y no hemolíticas. Se trata de bacilos Grampositivos pleomórfico, cortos, agrupados en pares extremo con extremo, cadenas, o filamentos curvados con extremos engrosados. Destaca la producción de ácido a partir de glucosa, ribosa, maltosa y sucrosa. Es positiva la reacción de β GUR y el resto de reacciones recogidas en API Coryne son negativas. Como excepción a la definición del género *Corynebacterium*, carece de ácidos micólicos en su pared, al igual que *C. amycolatum* y *C. kroppenstedtii*. Solo se ha descrito una cepa aislada de una muestra clínica humana pero de origen desconocido. Filogenéticamente, la especie más próxima es *C. mastitidis* (aislada de leche de ovejas con mastitis subclínica), mostrando una divergencia del 6% en la secuencia completa de gen 16S rADN; además posee ácidos micólicos y las reacciones de producción de β GUR, PYZ, PAL y ácido de glucosa, ribosa, maltosa y sucrosa, son las opuestas. De *C. kroppenstedtii*, que también carece de ácidos micólicos, se diferencia por hidrolizar esculina, sintetizar TBSA y divergen sus secuencias de 16S rADN un 7%. De *C. amycolatum*, se diferencia por la producción de PAL y PYZ, y β GUR negativa (resultados opuestos). De *C. glucuronolyticum*, donde destaca la positividad de β GUR como dato identificativo de esta especie, se diferencia de *C. atypicum* por poseer ácidos micólicos, ser negativa la PYZ y algunas cepas pueden hidrolizar esculina y urea (Tabla 11).

Tabla 11. Discriminación entre las tres corinebacterias carentes de ácidos micólicos y otras relacionadas filogenéticamente.

	<i>C. atypicum</i>	<i>C. amycolatum</i>	<i>C. kroppenstedtii</i>	<i>C. glucuronolyticum</i>	<i>C. mastitidis</i>
Producción de ácido de:					
glucosa	+	+	+	+	-
maltosa	+	V	+	+	-
ribosa	+	+	-	V	-
sucrosa	+	V	+	+	-
Producción de:					
β- glucuronidasa	+	-	-	+	-
Fosfatasa alcalina	-	+	V	-	+
Pirazinamidasa	-	+	+	+	+
Ureasa	-	V	-	V	V
Hidrólisis de esculina	-	-	+	V	-
Lipofilia	-	-	+	-	+
Presencia de					
Ácidos micólicos	-	-	-	+	+
TBSA	-	-	+	-	-

Reacción positiva: +, negativa: -, variable: V.

C. aurimucosum (Yassin *et al.*, 2002a; Daneshvar *et al.*, 2004). No lipófila. Fermentativa. Anaerobio facultativo. Su descripción inicial estuvo basada en una cepa que presentaba colonias húmedas, brillantes, amarillentas y con diámetro de 1 a 2 mm en medio de cultivo con sangre. En TSA sin sangre, no mostraban pigmento y eran pegajosas, adherentes. Su perfil bioquímico es similar a *C. minutissimum* con quien tiene un porcentaje de semejanza en la secuenciación del gen 16S rADN del 98,8% y un 42% de homología en la hibridación ADN-ADN. Fenotípicamente se pueden diferenciar por la hidrólisis del hipurato positiva y pigmentación de *C. aurimucosum*, mientras que *C. minutissimum* no presenta pigmentación pero produce DNasa y puede fermentar manitol (Zinkernagel *et al.*, 1996). *C. aurimucosum* puede dar lugar a un precipitado coraloide en medio de agar BHI suplementado con 1% de Tween 80 e incubado en aerobiosis o CO₂, (Yassin *et al.*, 2002a).

Posteriormente se ha comprobado que las bacterias con pigmentación negra CDC grupo 4 y *C. nigricans* previamente descrita (Shukla *et al.*, 2003), son sinónimos de *C. aurimucosum* (Daneshvar *et al.*, 2004), Por tanto es la única auténtica corinebacteria que puede presentar pigmentación negra. Esta característica es también observable en *R. dentocariosa*, siendo útil para su diferenciación la reducción de los nitratos positiva y la catalasa que puede ser negativa en *R. dentocariosa*. Los perfiles API de las cepas pigmentadas de *C. aurimucosum* incluyen 0000125, 2000125 y 2100327. Su genoma ha sido recientemente secuenciado (Tauch, 2008, comunicación personal).

C. auris (Funke *et al.*, 1995b). No lipófila. Oxidativa. Colonias ligeramente secas y adherentes pero sin penetrar en el agar, de 1 a 2 mm de diámetro; en incubación prolongada pueden adquirir una pigmentación amarillenta. Todas las cepas tienen una reacción CAMP positiva y DNAsa negativa. El perfil API 2100004 es compartido con *C. afermentans* subsp. *afermentans* (aspecto colonias secas y adherentes, CAMP variable) y *C. afermentans* subsp. *lipophilum* (lipófila) y *T. otitidis* (células más largas en tinción de Gram y ausencia de ácidos micólicos, y DNAsa positiva) (Renaud *et al.*, 1996). Para su discriminación también es útil el sistema comercial Biolog y las pruebas complementarias señaladas. Se han observado CMLs elevadas de antibióticos betalactámicos para *C. auris*.

C. bovis (Bergey *et al.*, 1923). Lipófila. Fermentativa. Muy raro su hallazgo en muestras humanas. Es una de las pocas corinebacterias en que se detecta TBSA. El perfil API es 0101104. Produce PAL y β GAL, ureasa positiva en API pero negativa en medios convencionales. En API Coryne fermenta glucosa a las 48-72 h pero no maltosa siendo ésta positiva por métodos convencionales. Fermenta fructosa. Es la única especie del género *Corynebacterium* con reacción oxidasa positiva.

CDC grupo F1 (Riegel *et al.*, 1995c). Lipófila. Fermentativa. Junto con la recientemente descrita *C. ureicelerivorans*, son las dos únicas corinebacterias lipófilas fermentativas con capacidad ureásica, aunque más potente (60 seg) en *C. ureicelerivorans*. En la Tabla 10 se recogen las pruebas fenotípicas más importantes para su discriminación.

CDC grupo G (Riegel *et al.*, 1995c). Lipófila. Fermentativa. Comparte con *C. jeikeium*, además de la lipofilia, el carácter de multirresistencia que puede presentar y se diferencia por el crecimiento en anaerobiosis y la fermentación de fructosa en CDC gr G y la negatividad de ambas pruebas en *C. jeikeium* además de su metabolismo oxidativo. También ha de tenerse en cuenta a *C. bovis*, aunque raro en muestras clínicas humanas, por ser lipófilo que también fermenta fructosa y crece en anaerobiosis como CDC gr G, pero se diferencian por ser PYZ positiva en CDC gr G y negativa en *C. bovis*.

C. confusum (Funke *et al.*, 1998a). No lipófila. Fermentativa. Crecimiento incipiente en anaerobiosis. Colonias blanquecinas, húmedas, brillantes, convexas y de bordes lisos. Perfil API 3100304, fermentación de la glucosa débil y a las 48 h (cambio de color respecto a la lectura a las 24 h), y por esto se puede confundir con *C. propinquum* que no fermenta la

glucosa pero hidroliza la tirosina, o con *C. coyleae* que también es fermentador lento de glucosa pero es negativa la reducción de nitratos y CAMP positiva, y con *C. argentoratense*, que tampoco reduce nitratos. Contiene TBSA.

C. coyleae (Funke *et al.*, 1997a). No lipófila. Fermentativa. Colonias blanquecinas, húmedas, brillantes, convexas y de bordes lisos. Fermentación lenta de glucosa, y de ribosa, siempre positiva y que la diferencia de *C. argentoratense*. Destaca en su identificación la reacción de CAMP positiva. El sistema API no la identifica de manera individual sino como *C. afermentans/coyleae* a las 24 h de incubación, con perfil 2100004, pudiéndose identificar de manera errónea como *C. afermentans*, especie estrechamente relacionada filogenéticamente y que puede dar positiva la reacción de CAMP en el 60 % de las cepas. Los perfiles API a las 48 h son 2100304 y 6100304 que se interpretan en la base de datos como *C. jeikeium* del que se diferencia por el aspecto de las colonias, la prueba de CAMP y la lipofilia, además, no presenta multiresistencia antibiótica pero sí altas tasas de resistencia a clindamicina (casi la totalidad de las cepas son resistentes) y macrólidos con predominio del fenotipo cMLS_B y detección del gen *erm(X)* (Fernández-Natal *et al.*, 2006; Fernández-Roblas *et al.*, 2006; Fernández-Natal *et al.*, 2008).

C. diphtheriae, descrita por primera vez por Kruse en 1886 y posteriormente por Lehmann y Neumann en 1896 y Skerman *et al.*, en 1980. Se diferencian cuatro biotipos: *gravis*, *intermedius*, *mitis* y *belfantis*. No lipófilos a excepción del biotipo *intermedius*. Fermentativa. Las colonias de *C. diphtheriae* biotipo *intermedius* son pequeñas, grises y traslúcidas, mientras que el resto de biotipos son más grandes, blancas y opacas. Todos producen ácido de glucosa y maltosa, es negativa la PYZ y PAL, y el ácido propiónico es el producto predominante en el metabolismo de la glucosa. *C. diphtheriae* biotipo *gravis* es fermentador de glucógeno. *C. diphtheriae* biotipo *intermedius* raramente se aísla en infecciones clínicas. *C. diphtheriae* biotipo *belfanti* casi nunca produce TD. Se requiere establecer el diagnóstico diferencial con otras corinebacterias que pueden dar lugar a cuadros clínicos similares y que pueden producir o expresar TD, como son *C. ulcerans* y *C. pseudotuberculosis* (Tabla 14), con las que tiene una estrecha relación filogenética. La TD es transportada en el gen *tox* y su detección *in vitro* se puede realizar mediante: prueba de Elek o Elek modificado (colocación de un disco de antitoxina en el centro de una placa con siembra/s de cepa/s a estudio) (Engler *et al.*, 1997),

por ICS (tira de inmunocromatografía) (Engler *et al.*, 2001) en una placa con cultivo puro de la cepa a estudiar, o detección del gen *tox* y *dtxR* (elemento regulador de la toxina diftérica) mediante PCR. La positividad de esta prueba no permite el diagnóstico de *C. diphtheriae* porque también pueden ser portadoras de este gen *tox* *C. ulcerans* y *C. pseudotuberculosis*. Se calificaría como “posible difteria” la positividad de la detección de toxina, acompañado de otros datos de laboratorio, histopatológicos, clínicos y epidemiológicos, no como un dato aislado. Ha sido secuenciado su genoma (Cerdeño-Tárraga *et al.*, 2003).

C. durum (Riegel *et al.*, 1997a). No lipófila. Fermentativa. Crecimiento incipiente en anaerobiosis. Colonias de morfología peculiar, pequeñas de 0.5 a 1 mm de diámetro a las 72 h de incubación en aerobiosis. La primera descripción fue como colonias rugosas, con circunvoluciones y bordes irregulares, muy adherentes al agar. Más tarde se han descrito como más lisas y no tan adherentes. La tinción de Gram de cultivos aeróbicos muestra células largas filamentosas con ocasionales ensanchamientos. Siempre reducen los nitratos pero la hidrólisis de urea y esculina es variable. Los numerosos perfiles API recogidos de publicaciones sugieren que, en la mayoría, son negativas las reacciones de PAL y PyrA. En el pasado se ha podido identificar erróneamente como *C. matruchotii* por su semejanza bioquímica. Las diferencias fenotípicas más destacables entre ambas especies con morfología celular “no-coryne” se señalan en la Tabla 12.

Tabla 12. Diferencias fenotípicas entre *C. durum* y *C. matruchotii*.

	<i>C. durum</i>	<i>C. matruchotii</i>
Gram	Filamentosas, a veces con ensanchamientos.	Forma de “látigo”
Colonias pequeñas	Adherentes, a veces rugosas	Filamentosas, lisas, con forma de araña
Hidrólisis de urea	V	-
Fosfatasa alcalina	-	+
α -glucosidasa	-	+
Fermentación de:		
manitol	+	-
galactosa	+	-
ribosa	+	-

Reacción positiva: +, negativa: -, variable: V

C. falsenii (Sjödén *et al.*, 1998). No lipófila. Fermentativa. Colonias húmedas, blanquecinas de bordes lisos, de 1 a 2 mm de diámetro a las 24 h de incubación en aerobiosis. A las 72 h de incubación o más, desarrollan un intenso pigmento amarillo, rasgo poco frecuente

en corinebacterias fermentativas no lipófilas de colonias húmedas, excepto por *C. aurimucosum* cultivado en un medio con sangre. Los perfiles API publicados han sido 2101104 y 2101304. Los datos bioquímicos más característicos son la lenta fermentación de la glucosa, débil reacción de PYZ e hidrólisis de la urea visible en API o medio de Christensen las 24 h.

C. freneyi (Renaud *et al.*, 2001; Funke y Frodl, 2008). No lipófila. Fermentativa. Colonias blanco-grisáceas (la mayoría) y amarillentas, secas, rugosas, plegadas, con surcos, de bordes irregulares, de 0,5 a 1 mm de diámetro después de 48 h de incubación. Estrechamente relacionada filogenéticamente con *C. xerosis* y también en sus perfiles bioquímicos. No está en la base de datos de API Coryne, y presenta perfiles 3110325 (reducción de nitratos positiva) y 2110325 (reducción de nitratos negativa), los mismos que para *C. xerosis*. Las 22 cepas descritas se han aislado: 13 de tracto genital femenino sin asociación a enfermedad, cinco de lesiones cutáneas, una de conducto auditivo externo, una biopsia duodenal, una orina y una de sangre. Todas producen α GLU y PAL, pero CAMP negativa. Es necesario recurrir a pruebas complementarias (Tabla 9), como el crecimiento en agar sangre a 20°C o la fermentación de glucosa a 42°C durante tres días, positivas ambas en la mayoría de los aislados, y a técnicas moleculares para su correcta discriminación (identificación polifásica). La morfología de las colonias y la secuenciación del ITS 16S-23S rADN permiten la diferenciación con *C. xerosis*, especie estrechamente relacionada, pero no la secuenciación 16S rADN.

C. glucuronolyticum (Funke *et al.*, 1995a). No lipófila. Fermentativa. A las 24 h de incubación crecen colonias húmedas, cremosas, blanco-amarillentas, convexas, de 1 a 1.5 mm de diámetro. Es destacable la variabilidad que puede presentar en las reacciones bioquímicas básicas. Reacción de CAMP positiva. Junto con *C. atypicum* son las dos únicas especies médicamente relevantes que tienen positiva la reacción β GUR (Tabla 11). Es una de las 4 corinebacterias que pueden hidrolizar la esculina, además de *C. kroppenstedtii*, *C. durum* y *C. matruchotii*. Puede producir ureasa. En el mismo año de su descripción, poco tiempo después, se describió *C. seminale* (Riegel *et al.*, 1995b). Se comprobó que se trataba de la misma especie, considerándose *C. seminale* como sinónimo de *C. glucuronolyticum*.

C. hansenii (Renaud *et al.*, 2007). No lipófila. Fermentativa. Colonias secas, rugosas, amarillentas, muy pequeñas, de 0.5 a 1 mm de diámetro. Estrechamente relacionada con *C. xerosis*, por proximidad filogenética, morfología de las colonias y patrón bioquímico, así como

con *C. freneyi* y *C. amycolatum* (Tabla 9). Todas estas especies se pueden aislar de muestras cutáneas, crecen formando colonias secas de bordes irregulares con ligeras variaciones en su pigmentación entre blanquecinas y amarillentas. En un primer intento de identificación bioquímica con sistemas comerciales, destaca la negatividad de PAL. La negatividad en la producción de α GLU, la diferencia de *C. freneyi* pero no de *C. xerosis* ya que existen cepas α GLU-negativas a la vez que se han descrito cepas de *C. amycolatum* α GLU-positivas. El perfil API 2000325 no la identifica. Es necesario recurrir a pruebas complementarias fenotípicas, donde destaca la falta de asimilación de maltosa de *C. hansenii* para diferenciarla de las tres especies mencionadas, y técnicas moleculares. *C. hansenii* no se discriminó de otras corinebacterias por la secuenciación del gen 16S rADN (954 pb), ni el gen *rpoB* (95 % de semejanza con *C. xerosis* y *C. freneyi*, y 85 % con *C. amycolatum*) ni por PCR del ITS 16-23S (fueron idénticos los de *C. xerosis* ATCC 373^T y *C. hansenii* ATCC 138^T); solo se logró mediante hibridación ADN-ADN obteniéndose <40%, <47% y <45% de semejanza con *C. xerosis*, *C. freneyi* y *C. amycolatum* respectivamente (Renaud *et al.*, 2007). La única cepa descrita no se mostró multirresistente a antibióticos.

C. imitans (Funke *et al.*, 1997b). No lipófila. Fermentativa. Crecen colonias blanquecino-grisáceas, húmedas, brillantes, de bordes lisos con un diámetro entre 1 y 2 mm. No produce halo marrón en el medio de Tinsdale pero la reacción de reducción de telurito es positiva. Debido a una débil positividad de PYZ, puede llevar a una identificación inicial errónea con *C. diphtheriae* (sumado a la sintomatología semejante que puede presentar el paciente) de la que se distingue por la negatividad de la reacción de α GLU, resistencia al factor vibriostático O/129 y negatividad de las pruebas para la detección de la TD, frente a los resultados opuestos de *C. diphtheriae*. Por otro lado, tiene una gran semejanza bioquímica, además de la morfología de las colonias, con *C. minutissimum*, probablemente identificado erróneamente en el pasado. *C. imitans* es CAMP positiva, no hidroliza la tirosina, y es resistente a O/129, mientras que en la mayoría de las cepas de *C. minutissimum* se observa lo contrario.

C. jeikeium (Jackman *et al.*, 1988). Lipófila. Metabolismo oxidativo. Aeróbica estricta. Colonias pequeñas de crecimiento lento, gris-blanquecinas, de bordes lisos. Puede producir ácido de glucosa y a veces de maltosa oxidativamente, pero no de fructosa. Una característica frecuente es la multirresistencia antibiótica; sin embargo, de las 4 genoespecies de *C. jeikeium*

descritas (A, B, C y D), dos (C y D) son sensibles a betalactámicos y aminoglucósidos (Riegel *et al.*, 1994). La discriminación con corinebacterias CDC gr G, también lipófilas y multirresistentes, está en que éstas son anaerobias facultativas y fermentan la fructosa, mientras que *C. jeikeium* es aerobia estricta y no fermenta fructosa. Su genoma ha sido secuenciado (Tauch *et al.*, 2005).

C. kroppenstedtii (Collins *et al.*, 1998). Lipófila. Fermentativa. Colonias grisáceas translúcidas, pequeñas, de menos de 0,5 mm de diámetro y ligeramente secas después de 24 h incubadas a 37°C. Su rasgo bioquímico más característico, por su infrecuencia en las corinebacterias, es la capacidad para hidrolizar esculina; algunas cepas de *C. durum*, *C. matruchotii* y *C. glucuronolyticum* también puede ser positiva esta reacción pero se diferencian por la morfología de las colonias y además de *C. glucuronolyticum*, por ser β GUR y CAMP negativa. Es una de las tres especies del género *Corynebacterium* que no contienen ácidos micólicos junto con *C. amycolatum* y *C. atypicum*; sin embargo, es la única de las tres que TBSA está presente en la composición de su pared celular (Tabla 11). Su genoma ha sido secuenciado (Tauch *et al.*, 2008).

C. lipophiloflavum (Funke *et al.*, 1997c). Lipófila. Metabolismo oxidativo. Reacciones bioquímicas muy similares a *C. urealyticum* del que se diferencia por la pigmentación intensa amarilla de sus colonias, la actividad urealítica más débil y no se ha observado multirresistencia antibiótica en la única cepa descrita, aislada en una paciente con vaginosis bacteriana.

C. macginleyi (Riegel *et al.*, 1995c). Lipófila. Fermentativa. Perteneciente a la genespecie III de las cinco establecidas en la última clasificación de corineformes lipófilos. Presenta colonias convexas y pequeñas, típicas de corinebacterias lipófilas. Los rasgos fenotípicos que la diferencian de la mayoría de corinebacterias son la negatividad de PYZ, la fermentación de manitol y el crecimiento de colonias con pigmento rosado en placas con medio SBA suplementado con Tween 80 (mejor al 0,1 % que al 1%). Estrechamente relacionada con *C. accolens* (genespecie II) de la que se diferencia por la negatividad de PAL y positividad de PYZ.

C. matruchotii (Collins *et al.*, 1982), previamente denominada por Mendel en 1912 como "*Bacterionema matruchotii*". No lipófila. Fermentativa. Forma colonias pequeñas, planas y filamentosas con forma de araña, aunque a veces, más grandes y con aspecto variable.

Destaca la morfología inusual de sus células en la tinción de Gram, que se observa incluso en cultivos de colección después de su mantenimiento durante años, en forma de látigo (forma filamentosa con un extremo bacilar corto). Puede ser confundido con *C. durum* por la gran semejanza en sus perfiles bioquímicos (Tabla 12). La discriminación fenotípica se centra principalmente en el aspecto de las colonias y la tinción de Gram. Ambos producen ácido propiónico a partir del metabolismo de la glucosa. No consta en la base de datos del sistema API CoryneTM y sus perfiles pueden ser 7000325, 7010325 y 7050325. Tiene capacidad calcificante (Cohen *et al.*, 2004).

C. minutissimum (Collins y Jones, 1983; Yassin *et al.*, 2002a). No lipófila. Fermentativa. Colonias blanco-grisáceas, cremosas (a veces ligeramente secas), brillantes, circulares de bordes lisos, de 1 a 1,5 mm de diámetro después de 24 h de incubación. Perfil bioquímico similar a *C. aurimucosum*. Produce ácido de glucosa, ribosa, maltosa y manitol, pero variable de sacarosa. La mayoría de las cepas son PyrA positiva. El sistema API Coryne no identifica por sí solo *C. minutissimum*, requiere de pruebas complementarias como: actividad DNAsa, asimilación de maltosa, NAG y PAC, sensibilidad al factor vibriostático O/129 y positividad de la hidrólisis de tirosina. Solo unas pocas cepas son CAMP positivas y algunas poseen TBSA (Tablas 8 y 13).

C. mucifaciens (Funke *et al.*, 1997d). No lipófila. Metabolismo oxidativo. La morfología de las colonias es un rasgo que las caracteriza: muy mucoides, amarillas, bordes lisos y de 1 a 1,5 mm de diámetro a las 24 h de incubación. Una sustancia extracelular, probablemente un polisacárido, une las células mediante filamentos. Se ha descrito una cepa atípica, NML 97-0160, denominada en *GenBank* como “closest to *C. mucifaciens*”, que presenta colonias blanquecinas, no mucoides, de 1 mm de diámetro a las 24 y 72 h, y perfil API 2100104 (Cantarelli *et al.*, 2006). Los perfiles API publicados 2000004, 2000104, 2000105, 2100104, 6000004, 6100104 sugieren que la oxidación de glucosa es lenta. Es menos activa enzimáticamente que *Rhodococcus equi* con quien tiene semejanza en la morfología mucoide de las colonias. En *R. equi* es positiva la reacción de α GLU y β GLU, negativas en *C. mucifaciens*. Además, *C. mucifaciens* produce ácido de fructosa, glicerol y manosa, negativos en *R. equi*. Posee de 1 a 2% de TBSA. Suele ser sensible a antibióticos betalactámicos y aminoglucósidos.

Tabla 13. Características diferenciales de cuatro especies de *Corynebacterium* de crecimiento similar*, fermentativas, no lipófilas e hidrolizantes de la tirosina.

	<i>C. minutissimum</i>	<i>C. simulans</i>	<i>C. striatum</i>	<i>C. singulare</i>	<i>C. aurimucosum</i>
Reducción de nitratos	-	+	+	-	-
Reducción de nitritos	-	+	V	-	-
Ureasa	-	-	-	+	-
Pirazinamidasa	+	V	+	+	+
Producción de ácido a partir de:					
sucrosa	V	+	V	+	+
maltosa	+	-	-	+	+
galactosa	-	V	+	-	nd
Crecimiento en AS a 20°C 3 d	-	-	+	-	nd
Fermentación glucosa a 42°C	V	V	+	+	nd
CAMP	(-) ^b	-	V	-	nd
Ácido de etilenglicol	-	-	+	-	-

*Colonias de aspecto "húmedo". Reacción positiva: +, negativa: -, variable: V. Agar sangre: AS. ^a en muy pocas cepas puede ser positiva (-). No datos: nd.

C. mycetoides (Collins (ex Castellani 1942), 1983). Se ha descrito como patógeno en plantas y hombre, sin embargo, son escasas y no recientes las referencias de su implicación en medicina humana. No se ha hecho referencia alguna a esta especie en los manuales de Microbiología Clínica de los últimos años (Funke y Bernard, 1999; Funke y Bernard, 2003; Funke y Bernard, 2007).

C. propinquum (Riegel *et al.*, 1993b). No lipófila. Metabolismo oxidativo. Crece formando colonias blanquecinas, en ocasiones ligeramente secas, de bordes lisos y de 1 a 2 mm de diámetro después de 24 h de incubación. Con *C. pseudodiphtheriticum* comparte nicho ecológico, la nasofaringe, y una estrecha relación filogenética con una semejanza en la secuenciación del gen 16S rADN del 99,3 %. Ambos tienen metabolismo oxidativo y no son lipófilos. Fenotípicamente se pueden diferenciar porque en *C. propinquum* la actividad ureásica es negativa, y positiva en *C. pseudodiphtheriticum*. Ambas reducen los nitratos. La hidrólisis de la tirosina es positiva en *C. propinquum*, mientras que solo lo es en unas pocas cepas de *C. pseudodiphtheriticum*. API Coryne lo identifica bien.

C. pseudodiphtheriticum (Lehmann y Neumann, 1896; Skerman *et al.*, 1980). No lipófila. Metabolismo oxidativo. Como ya se refirió en *C. propinquum* es con quien guarda muchas semejanzas: nicho ecológico, filogenia, morfología de las colonias y reacciones bioquímicas, siendo la más reseñable la capacidad ureásica de *C. pseudodiphtheriticum*. API Coryne lo identifica bien, no produciendo ácido de los azúcares contenidos en el sistema. A su vez, comparte semejanza bioquímica con *C. urealyticum*, descrito inicialmente como variante

nitrato-negativa de *C. pseudodiphtheriticum* (Hollis y Weaver, 1981). Ambas se diferencian además por la lipofilia, morfología y velocidad de crecimiento de las colonias, y habitual multirresistencia antimicrobiana presente en *C. urealyticum*.

C. pseudotuberculosis (Eberson, 1918), previamente denominada por Buchanan en 1911 como "*Bacillus pseudotuberculosis*". No lipófila. Fermentativa. Sus colonias son blanquecino-amarillentas, opacas, convexas, de aproximadamente 1 mm de diámetro a las 24 h de incubación. Se diferencian dos biovar: *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis* y *C. pseudotuberculosis* biovar *equi*. En su filogenia está muy próximo a *C. ulcerans* y *C. diphtheriae* (98,5% de semejanza en sus secuencias 16S rADN) y los cuadros clínicos pueden ser parecidos. API Coryne lo identifica bien. Al igual que *C. ulcerans*, produce TD, tiene capacidad ureásica, reacción CAMP inversa (inhibida) y reducción de nitratos variable. Se diferencian por el comportamiento frente al factor vibriostático O/129, resistente en *C. pseudotuberculosis* y sensible en *C. ulcerans* y por la fermentación del glucógeno, negativa en *C. pseudotuberculosis* y positiva en *C. ulcerans*. Las características de las corinebacterias con capacidad de producir TD se resumen en la Tabla 14 siendo todas fermentativas, PYZ negativa, y no lipófilas excepto *C. diphtheriae* biotipo *intermedius*.

Tabla 14. Corinebacterias con capacidad de producir toxina diftérica.

	<i>C. diphtheriae</i> 4 biotipos	<i>C. pseudotuberculosis</i>	<i>C. ulcerans</i>
Morfología de las colonias	Difiere según biotipo ^a	Amarillentas, opacas, convexas	Grisáceas, blanquecinas, ligeramente hemolíticas
Reducción de nitratos	+	-	-
Ureasa	-	+	+
Producción de ácido a partir de:			
glucosa	+	+	+
maltosa	+	+	+
sucrosa	-	V	-
Fermentación de glucógeno	- ^b	-	+
CAMP	-	Inversa	Inversa
Factor vibriostático O/129	S	R	S

^a *C. diphtheriae* biotipo *intermedius*: grises, pequeñas, traslúcidas. *C. diphtheriae* biotipo *gravis*, *mitis*, *belfanti*: grandes, blanquecinas, opacas. Reacción positiva: +, negativa: -, variable: V. ^b Solo positiva en *C. diphtheriae* biotipo *gravis*

C. resistens (Otsuka *et al.*, 2005). Lipófila. Fermentativa. Colonias nacaradas gris-blanquecinas, de 1 mm de diámetro en TSA a las 24 h. Incipiente crecimiento en anaerobiosis. Cuatro de las cinco cepas descritas han mostrado multirresistencia antibiótica. La ausencia de actividad PYZ en *C. resistens* (también observable en *C. atypicum*, *C. macginleyi* y las tres

corinebacterias con capacidad de producir TD) permite su diferenciación de otras corinebacterias lipófilas y en especial de aquellas que en la mayoría de cepas también son multirresistente a antibióticos: *C. jeikeium*, *C. urealyticum* y CDC grupo G. El perfil bioquímico de *C. resistens* y el resto de corinebacterias lipófilas con relevancia médica humana se expone en la Tabla 15.

Tabla 15. Características bioquímicas de las 15 corinebacterias lipófilas con relevancia médica humana.

	F/O	NIT	URE	ESC	PYZ	PAL	CAMP	Producción de ácido a partir de:				Otras
								Glu	Mal	Suc	Man	
<i>C. accolens</i>	F	+	-	-	V	-	-	+	-	V	V	
<i>C. appendicis</i>	F ^a	-	+	-	+	+	-	(+)	(+)	-	-	
<i>C. afermentans</i>	O	-	-	-	+	+	V	-	-	-	-	
subsp. <i>lipophilum</i>												
<i>C. bovis</i>	O	-	-	-	V	+	-	+	-	-	-	βGAL +
<i>C. diphtheriae</i>	F	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	
biotipo <i>intermedius</i>												
<i>C. jeikeium</i>	O	-	-	-	+	+	-	+	V	-	-	MR AN - Fruc -
<i>C. kroppenstedtii</i>	F	-	-	+	+	-	-	+	V	-	-	TBSA
<i>C. lipophiloflavum</i>	O	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	Amarilla
<i>C. macginleyi</i>	F	+	-	-	-	+	-	+	-	+	V	
<i>C. resistens</i>	F	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	MR AN lento Fruc -
<i>C. urealyticum</i>	O	-	+	-	+	V	-	-	-	-	-	MR TBSA
<i>C. ureicelerivorans</i>	F ^a	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	HIP + TBSA
<i>C. tuberculoestearicum</i> ^b	F	V	-	-	+	V	nd	+	V	V	V *	TBSA
CDC grupo F1	F	V	+	-	+	-	-	+	+	+	-	
CDC grupo G	F	V	-	-	+	+	-	+	V	V	-	MR Fruc + AN +

F/O, metabolismo Fermentativo / Oxidativo. NIT, reducción de nitratos. URE, hidrólisis de urea. ESC, hidrólisis de, esculina. PYZ, pirazinamidasa. PAL, fosfatasa alcalina. βGAL, β-galactosidasa. Glu, glucosa. Mal, maltosa. Suc, sucrosa. Man, manitol. HIP, hidrólisis de hipurato. Fruc, fermentación de fructosa. MR, multirresistencia antibiótica en la mayoría de cepas. AN, crecimiento en anaerobiosis; nd, no datos. + reacción positiva, - negativa, V, variable, (+) positiva en API Coryne a los 3-7 d de incubación. ^a lento (3 días). ^b Los resultados positivos son referidos a >80% de las cepas estudiadas. V *, negativa en Funke y Bernard, 2007; positiva en Feurer *et al.*, 2004.

C. riegelii (Funke *et al.*, 1998b). No lipófila. Fermentativa. Incipiente crecimiento en anaerobiosis. Se muestra con colonias blanquecinas, brillantes, convexas de bordes lisos y de 1,5 mm de diámetro o mayor a las 48 h de incubación. Su consistencia suele ser cremosa, aunque a veces es algo leñosa, seca. Su rasgo más característico es la intensa actividad

ureásica: puede ser positiva en cinco minutos a temperatura ambiente en medio líquido de Christensen, y por la ausencia de fermentación de glucosa y lenta de maltosa. No está incluida en la base de datos de API Coryne.

C. simulans (Wattiau *et al.*, 2000). No lipófila. Fermentativa. Previamente denominada *C. striatum*-like. Sus colonias son grisáceo-blanquecinas, húmedas, brillantes, cremosas, con bordes lisos de 1 a 2 mm de diámetro. Comparte semejanzas de morfología de cultivo (colonias húmedas), bioquímicas y filogenéticas ($\geq 97\%$ de semejanza en secuenciación del gen 16S rADN) con *C. minutissimum*, *C. singulare* y *C. striatum*. Todas ellas hidrolizan tirosina. API Coryne (perfiles 2100105, 2100301, 2100305 para *C. simulans*) no las identifica como especies individualizadas, siendo necesario recurrir a pruebas complementarias que se exponen en la Tabla 13. Su rasgo más distintivo es la capacidad de reducir nitritos.

C. singulare (Riegel *et al.*, 1997b). No lipófila. Fermentativa. Colonias húmedas, circulares convexas de bordes lisos y consistencia cremosa. Como ya se ha expuesto, comparte muchas características fenotípicas y filogenéticas con *C. minutissimum*, *C. striatum* y *C. simulans* (Tabla 13). Su rasgo fenotípico más característico es la producción de ureasa.

C. striatum (Eberson, 1918, y anteriormente denominada por Chester en 1901 como "*Bacterium striatum*"). No lipófila. Fermentativa. Colonias húmedas, convexas, brillantes de bordes lisos y consistencia cremosa. Pueden recordar a las colonias de estafilococos coagulasa negativa. La descripción de la cepa tipo se realizó por Coyle *et al.*, 1993. Presenta características fenotípicas y genotípicas semejantes a *C. minutissimum*, *C. singulare* y *C. simulans* (Tabla 13). Destaca la positividad de la reacción de CAMP y la sensibilidad al factor vibriostático O/129. Puede ser resistente a tetraciclinas, quinolonas y macrólidos. Se han descrito cepas con multirresistencia antibiótica (Otsuka *et al.*, 2006).

C. sundsvallense (Collins *et al.*, 1999). No lipófila. Fermentativa. Colonias adherentes al agar de color ante o amarillentas, de consistencia seca, leñosa. Lo más significativo, por no parecerse a ninguna otra corinebacteria, es la morfología de sus células en la tinción de Gram, algunas ramificadas y donde se pueden observar protuberancias en sus extremos, hecho que no aparece en ninguna otra corinebacteria. Destaca por producir ureasa. La producción de α GLU y la negatividad en la reducción de nitratos lo diferencia de *C. durum* con resultados opuestos.

C. thomssenii (Zimmermann *et al.*, 1998). No lipófila. Fermentativa. Es una especie rara, de crecimiento muy lento, con colonias pequeñas, de 0,5 mm de diámetro a las 48 h de incubación y a las 96 h de incubación tienen un aspecto molar, muy secas y ligeramente adherentes al agar. Es la única corinebacteria capaz de producir N-Acetyl- β -Glucosaminidasa (β NAG). Produce ureasa. El perfil API Coryne es 2121125 pero no la identifica en su base de datos.

C. tuberculoestearicum (Feurer *et al.*, 2004). Lipófila. Fermentativa. Su denominación se debe a la producción de TBSA. En la clasificación taxonómica de las corinebacterias lipófilas (Riegel *et al.*, 1995), mediante hibridación ADN-ADN, se distinguen 5 genoespecies. La genoespecie I incluye: "*C. tuberculoestearicum*" LCD8, cepa CDC G 5840 (grupo G2), cepa CDC F 8156 (grupo G1) y 3 biotipos diferentes de "*C. pseudogenitalicum*". En TSA suplementado con 1% de Tween 80, las colonias son blanquecinas y brillantes, de bordes lisos, con 1 mm de diámetro después de 24-48 h de incubación a 37°C. En la tinción de Gram se observan bacilos grampositivos con uno de sus extremos hinchados. Las principales características bioquímicas se exponen en la Tabla 15. Están basadas en los resultados obtenidos del estudio de 11 cepas de la colección del Instituto Pasteur, nueve de ellas provenientes de muestras clínicas humanas y alimentos y dos cepas tipo de *C. "tuberculoestearicum"* CIP 107291^T y CIP 107067^T. Los resultados referidos como positivos corresponden a >80% de las cepas, y se comprobó una elevada coincidencia con los resultados obtenidos de las cepas tipo "*C. pseudogenitalicum*" CIP 106714 (difieren en la fermentación de la maltosa, negativa en éste último). Otras características bioquímicas son: la fermentación de galactosa y glicerol, y la negatividad de α GLU en todas las cepas estudiadas. Cuatro especies lipófilas, una oxidativa y tres fermentativas, contienen TBSA: *C. urealyticum*, *C. kroppenstedtii*, *C. ureicelerivorans* y *C. tuberculoestearicum* (Tabla 15). Esta doble característica permite su diferenciación de otras corinebacterias lipófilas con algunas reacciones bioquímicas variables: *C. accolens* y CDC grupo G.

C. tuscaniae (Riegel *et al.*, 2006). No lipófila. Oxidativa. Aerobia estricta. Colonias blancas, redondas, de bordes lisos y no hemolíticas. Fenotípicamente comparte semejanzas con otras corinebacterias fermentativas con actividad PYZ y PAL, sobre todo con *C. minutissimum* con quien puede ser confundida (Tabla 16). El perfil API es 2100124. *C.*

tuscaniae hidroliza el hipurato pero no la tirosina, produce ácido de la fermentación de maltosa y la reacción de CAMP es negativa; estos resultados son opuestos en *C. coyleae*. De *C. minutissimum* se diferencia por su capacidad de crecer en anaerobiosis, hidrolizar tirosina además de fermentar manitol y poseer DNAsa. De *C. aurimucosum*, de perfil bioquímico muy parecido a *C. minutissimum*, se diferencia porque produce pigmentación amarilla en medio de cultivo con sangre, hidroliza la tirosina pero no posee DNAsa, y puede hidrolizar hipurato. De *C. amycolatum* se diferencia por el aspecto de las colonias, secas y enceradas con bordes irregulares además de no poseer ácidos micólicos. La única cepa descrita, aislada en sangre, ha sido resistente a ceftazidima y fosfomicina pero sensible a amoxicilina, eritromicina, tetraciclina, gentamicina y vancomicina. En su filogenia, la especie más próxima es *C. appendicis* (97,4% de semejanza en la secuencia del gen 16S rADN) de la que se diferencia por tener actividad ureásica y ser lipófila. Con *C. coyleae*, la semejanza es del 97%.

Tabla 16. Discriminación de *C. tuscaniae* de otras corinebacterias relacionadas: todas PAL y PYZ positivas.

	F/O	LIP	URE	HIP	TIR	CAMP	Producción de ácido a partir de:			Otras
							Glucosa	Maltosa	Sucrosa	
<i>C. tuscaniae</i>	O	-	-	+	-	-	+	+	-	Oxidativa
<i>C. coyleae</i>	F	-	-	-	-	+	+ ^a	-	-	
<i>C. minutissimum</i>	F	-	-	-	+	V	+	+	V	DNAsa
<i>C. aurimucosum</i>	F	-	-	+	+	nd	+	+	+	Fermenta manitol
										Colonias pigmentadas (amarillentas, negras)
<i>C. appendicis</i>	F	+	+	-	-	-	+ ^b	+ ^b	-	Crecimiento lento
										Colonias pequeñas

F/O metabolismo Fermentativo/Oxidativo Reacción positiva (+), negativa (-), variable (V).^a Fermentación lenta, las 48 h.
^b Fermentación muy lenta, hasta siete días en API Coryne. LIP, lipofilia. URE, ureasa. HIP, hidrólisis de hipurato. TIR, hidrólisis de tirosina. nd, no datos.

C. ulcerans (Riegel *et al.*, 1995d). No lipófila. Fermentativa. Colonias secas, enceradas, grisáceo blanquecinas, con ligera hemólisis y de 1 a 2 mm de diámetro a las 24 h. Filogenéticamente muy relacionada con *C. diphtheriae* y *C. pseudotuberculosis*, todas ellas pueden producir TD y cuadros clínicos semejantes. API CoryneTM lo identifica bien. Las diferencias fenotípicas entre ellas se recogen en la Tabla 14.

C. urealyticum (Pitcher *et al.*, 1992). Lipófila. Metabolismo oxidativo. Es aeróbica estricta. Colonias puntiformes de crecimiento lento, blanco-grisáceas, convexas y lisas en agar

sangre. Los sistemas comerciales la identifican bien. Destaca su intensa y rápida capacidad ureásica. Anteriormente denominada *Corynebacterium* grupo D2, y considerada por Hollis y Weaver en 1981 como variante nitrato-negativa de *C. pseudodiphtheriticum* (mismas reacciones en API Coryne salvo esta prueba) además de no ser lipófila. Aunque hay cepas sensibles a antibióticos (Zapardiel *et al.*, 1997; Funke y Bernard, 2007), es frecuente observar multirresistencia (Soriano *et al.*, 1990; Soriano *et al.*, 1995; Fernández-Natal *et al.*, 2001). La diferenciación de otras corinebacterias lipófilas con capacidad ureásica se describe en la Tabla 10. El contenido medio de G+C de 64,2% y el genoma de la cepa tipo consiste en un cromosoma circular de 2.369. 219 pb, explican su comportamiento (Tauch *et al.*, 2008; Soriano y Tauch, 2008).

C. ureicelerivorans (Yassin, 2007). Lipófila. Fermentativa. Anaerobia facultativa. Colonias blanco-grisáceas, pequeñas (0,1 a 1 mm de diámetro) y secas, de bordes lisos, no hemolíticas. Debe su nombre a la rápida utilización de la urea, siendo positiva su hidrólisis en 60 seg en la galería API Coryne. Sin embargo la producción de ácido a partir de azúcares ha de interpretarse a las 48-72 h: produce ácido de glucosa, débilmente de ribosa y xilosa pero no de maltosa y sacarosa. Contiene ácidos corinomicólicos y TBSA (4,8%). Perfil API: 6101104, que lo interpreta como *C. bovis* pero se diferencia porque ésta es β GAL positiva y la única corinebacteria oxidasa-positiva; además de ureasa negativa y fermentación de maltosa positiva en medios convencionales. Otras reacciones bioquímicas: reducción de nitratos, hidrólisis de esculina, gelatina y esculina negativa. La positividad de PAL e hidrólisis del hipurato, así como la no fermentación de maltosa y sacarosa, la diferencian de CDC gr F1 (Tabla 10). La especie con características fenotípicas más parecidas es *C. urealyticum*, ambas lipófilas con colonias pequeñas de crecimiento lento, y potente capacidad ureásica, pero *C. urealyticum* es oxidativa, aerobia estricta y con frecuencia presenta multirresistencia antibiótica y no utiliza ningún carbohidrato, siendo importante la lectura de la galería API Coryne a las 72 h para no interpretar una reacción falsa negativa e identificación errónea de *C. ureicelerivorans*. De *C. appendicis*, lipófila, fermentativa, de crecimiento lento y morfología de las colonias semejante, se diferencia por la capacidad ureásica más débil, no hidroliza hipurato y la fermentación aún más lenta de carbohidratos (hasta siete días de incubación). La relación filogenética más próxima es con *C. mucifaciens* con quien presenta una divergencia en la secuencia del gen 16S rADN de solo 1,4%, pero con fenotipo muy diferente: ureasa negativa, no lipofilia y

colonias muy mucosas y amarillas, aunque no todas presentan esta morfología, como la cepa denominada en *GenBank* “*closest to C. mucifaciens*”, que presenta colonias blanquecinas de 1 mm de diámetro y no mucoides (Cantarelli *et al.*, 2006).

C. xerosis (Lehmann y Neumann “*Bacterium xerosis*”, 1896; Skerman *et al.*, 1980). No lipófila. Fermentativa. Colonias secas, rugosas, de bordes irregulares, pigmentación amarilla, de 1 a 1,5 mm de diámetro después de 24 h de incubación. En el pasado ha podido ser identificada erróneamente tratándose en realidad de *C. amycolatum* (Funke *et al.*, 1996a). No consta en la base de datos de API Coryne ni Biolog (Lindemann *et al.*, 1995) y los perfiles obtenidos con API han sido 2110325 y 3110325, por la variabilidad en la reducción de los nitratos. Una prueba que destaca en su identificación es la positividad de α GLU, como prueba diferenciadora de *C. amycolatum*; sin embargo, se han descrito cepas de *C. amycolatum* α GLU-positiva y cepas de *C. xerosis* α GLU-negativa (Wauters *et al.*, 1998), y existen otras especies que también la producen como *C. freneyi* con características fenotípicas muy similares (Tabla 9), siendo la morfología de las colonias y la secuenciación del ITS 16S-23S las pruebas más útiles para su discriminación (Funke y Frodl, 2008). Por otro lado, *C. hansenii* es una especie α GLU negativa pero estrechamente relacionada con *C. xerosis*, coincidiendo en resultados de pruebas fenotípicas como el aspecto de las colonias secas y amarillentas o el crecimiento en agar sangre a 20°C y la no fermentación de glucosa a 42°C; la secuenciación 16S rADN e ITS 16S-23S no permiten su discriminación, únicamente mediante hibridación ADN-ADN (Renaud *et al.*, 2007). Por tanto se requiere una identificación polifásica para una acertada discriminación entre un grupo de corinebacterias fermentativas y no lipófilas estrechamente relacionadas, tanto en la caracterización microbiológica como en las implicaciones en clínica humana.

1.3.1 Especies relacionadas con la medicina humana. Patología asociada

A continuación se detallan, por orden alfabético, las 45 especies de corinebacterias con relevancia clínica humana, el tipo de muestra donde se han aislado y/o la enfermedad asociada con la infección (Coyle y Lipsky, 1990; Esteban y Soriano, 1997; Bernard, 2002; Bernard, 2005; Funke y Bernard, 2007). Se indican las referencias bibliográficas no incluidas en las anteriores.

C. accolens. Se ha relacionado con diversos cuadros clínicos como endocarditis nativa aórtica y mitral, sepsis, meningitis, queratoconjuntivitis, sinusitis, tonsilitis, absceso lingual, endocervicitis y úlcera cervical, así como de muestras respiratorias y conjuntiva sana.

C. afermentans* subsp. *afermentans. Forma parte de la flora normal de la piel y se ha descrito su implicación en sepsis, bacteriemias, exudado de oído medio (Simonet *et al.*, 1993; Renaud *et al.*, 1996) y absceso pleuropulmonar (Minkin *et al.*, 2004).

C. afermentans* subsp. *lipophilum. Esta corinebacteria ha sido aislada en cuadros de bacteriemia, endocarditis sobre válvula protésica (Sewell *et al.*, 1995), infección de partes blandas (abscesos y heridas superficiales) y en empiema de pulmón (Minkin *et al.*, 2004). También se ha aislado de conjuntiva sana.

C. amycolatum. Forma parte de la flora normal de la piel y es una de las corinebacterias más frecuentemente aisladas en muestras clínicas humanas. Se ha aislado en diversas situaciones clínicas como bacteriemia, sepsis, endocarditis sobre válvula nativa, infección de material protésico (catéteres, válvulas cardiacas, artroplastias, marcapasos, etc.), osteomielitis, infección de herida quirúrgica y del tracto urinario.

C. appendicis. El único aislado descrito ha sido a partir de un absceso abdominal en un paciente diagnosticado de apendicitis.

C. argentoratense. Se ha aislado de sangre, y exudados faríngeos con y sin faringitis. Su asentamiento en una biopelícula en el tejido adenoide explicaría la patogenicidad de otitis recurrentes en niños (Kania *et al.*, 2008).

C. atypicum. La única cepa descrita se aisló de una muestra clínica humana no identificada que fue enviada a una unidad de referencia de microorganismos anaerobios en el Reino Unido.

C. aurimucosum. Su primera descripción fue a partir de una cepa aislada de sangre en un paciente con bronquitis con significado clínico indeterminado. Posteriormente, y como corinebacteria productora de pigmento negro inicialmente propuesta como *C. nigricans* y considerada sinónimo de *C. aurimucosum* en la actualidad. Ha sido aislada de LCR pero principalmente de muestras genitourinarias femeninas: orina, vulva, glándula de Bartolino, vagina, cérvix, endometrio y también de placenta y líquido amniótico, produciendo en ocasiones complicaciones del embarazo como aborto espontáneo, muerte fetal y parto pretérmino, considerándose un posible patógeno oportunista durante el embarazo. También se ha aislado de infecciones articulares y óseas, siendo la segunda corinebacteria más frecuente en estas muestras después de *C. striatum*.

C. auris. Se ha aislado del conducto auditivo externo normal o patológico (otitis) y de hemocultivos (Babay *et al.*, 2004) sin indicación de su significado clínico.

C. bovis. Normalmente asociado con enfermedad bovina (pielonefritis y mastitis). En humanos ha sido recuperada de mastoiditis, otitis media, infección del SNC, endocarditis sobre válvula protésica, úlcera cutánea crónica, hemocultivo y conjuntivitis (Dutly *et al.*, 2003).

CDC grupo F1. Aislada de diversas muestras clínicas (Chudnicka *et al.*, 2003) como sangre, exudados de herida y conjuntival, cérvix, líquido de diálisis y en ITU; en un caso esta corinebacteria fastidiosa con capacidad ureásica, capaz de producir cristales de estruvita (Digenis *et al.*, 1992) y sensible a antibióticos se aisló en un paciente con cistitis incrustante e ITU previas persistente por *C. urealyticum* y con buena evolución microbiológica al mes de ser tratado con amoxicilina y ácido acetohidroxámico (Soriano y Ponte, 1992).

CDC grupo G. Forma parte de la microflora de la axila (Taylor D *et al.*, 2003). Se ha descrito en prostatitis, con mayor concentración en semen que en orina (Türk *et al.*, 2007), bacteriemia, LCR, infecciones de catéter y marcapaso, infección de herida, esputo, líquido de mediastino y sinovial. Puede ser multirresistente a antibióticos.

C. confusum. Es una corinebacteria infrecuente en muestras humanas. La descripción de esta especie se hizo a partir de dos cepas aisladas de exudados de una infección de pie y una aislada de sangre. Posteriormente se identificó otra cepa procedente de un absceso de mama.

C. coyleae. Se ha descrito como causa de sepsis en pacientes adultos inmunocomprometidos o no y con manipulación diagnóstico-terapéutica, y de bacteriemias en neonatos a término y prematuros, con antecedentes de parto vaginal precedido con frecuencia de rotura prolongada de membranas o instrumentalización del mismo. También ha sido aislado de infecciones de partes blandas (exudado superficial y absceso subcutáneo postraumático), de bolsa de concentrado de hematíes en reacción febril post-transfusional (Fernández- Natal *et al.*, 2008), de orina y de líquido prostático en pacientes con prostatitis y sanos.

C. diphtheriae. Agente causal de la difteria clásica faríngea y difteria cutánea. La difteria clásica faríngea está producida por cepas toxigénicas, mientras que las aisladas de lesiones cutáneas pueden o no producir toxina. Las cepas no toxigénicas pueden producir faringitis, endocarditis o infección de cuerpo extraño. Tanto las cepas no toxigénicas o toxigénicas de localización no faríngea pueden causar enfermedad importante en cierto tipo de población: sin techo, de instituciones cerradas, alcohólicos y drogadictos (Huber-Schneider *et al.*, 1994). Son susceptibles todos aquellos que no hayan sido vacunados durante la infancia o no revacunados en edad adulta. La afectación sistémica puede dar lugar a fiebre, neuritis, nefritis, discitis, miocarditis y pérdida de la audición. Tanto la difteria clásica (cepas toxigénicas) como las cepas no toxigénicas de *C. diphtheriae* y las toxigénicas de *C. ulcerans* y *C. pseudotuberculosis* han de ser notificadas. Aunque el tratamiento de elección son penicilinas o macrólidos, se han descrito resistencias a eritromicina y rifampicina. Telitromicina también se ha mostrado eficaz. Entre el 20 y 60% de los adultos de Estados Unidos de América no están protegidos con anticuerpos frente a la toxina diftérica, lo que significa un riesgo potencial para la salud pública, debiendo además considerarla como una enfermedad re emergente. En España, desde el año 2000 a 2007, el porcentaje de población diana vacunada ha sido del 98% y no ha sido declarado ningún caso de difteria.

Disponible en: <http://www.who.int/vaccines/globalsummary/inmunization/country>

C. durum. Su primer aislamiento fue a partir de medios no selectivos donde se habían cultivado muestras respiratorias, esputo y lavado bronquial. Es la corinebacteria que más se aísla de garganta en personas sanas. Posteriormente se ha aislado en bacteriemia, gingivitis y abscesos. Su potencial patógeno no está claro.

C. falsenii. La única información disponible sobre el aislamiento en muestras clínicas humanas de esta corinebacteria, de colonias con pigmentación amarilla, es la referencia bibliográfica donde se describe como nueva especie a partir de cuatro cepas aisladas entre 1991 y 1995 de dos adultos y dos niños, procedentes de líquidos biológicos estériles, tres de sangre, dos de ellas aisladas de pacientes con enfermedad oncohematológica, y una de LCR sin más información sobre su aislamiento primario.

C. freneyi. Se ha aislado en infecciones de tejidos blandos (abscesos, úlceras cutáneas), bacteriemia, muestras del tracto genital femenino sin patología asociada, biopsia de duodeno, testículo, conducto auditivo externo y orina (Funke y Frodl, 2008).

C. glucuronolyticum (sinónimo de *C. seminale*). Probablemente forme parte de la flora genitourinaria masculina normal y puede causar infecciones, mientras que su presencia en mujeres es de significación incierta. También se ha aislado de sangre, líquido peritoneal y líquido de diálisis. Algunas cepas han mostrado multirresistencia a antibióticos.

C. hansenii. El único caso publicado de esta corinebacteria procedió de una muestra de pus de drenaje de liposarcoma en cultivo mixto con *S. aureus* meticilín-sensible y *C. pseudodiphtheriticum* (Renaud *et al.*, 2007).

C. imitans. La primera cepa descrita fue aislada de un exudado nasofaríngeo de un niño rumano de cinco meses no vacunado frente a la difteria, con cuadro clínico similar a esta enfermedad donde se probó la transmisión persona-persona (a tres adultos).

C. jeikeium. Es una de las corinebacterias que con más frecuencia y diversidad se ha relacionado con patología infecciosa humana, destacando su aislamiento de sangre como responsable de sepsis en pacientes inmunocomprometidos hospitalizados y endocarditis, destacando las relacionadas con válvula protésica mecánica (Mookadam *et al.*, 2006), así como meningitis (Johnson *et al.*, 1992; Klibanov *et al.*, 2003), neumonía, infección de material protésico, infección de herida, osteomielitis (von Graevenitz *et al.*, 1998; Ordóñez-Palau *et al.*, 2007), ITU, otitis media e infección nosocomial (coloniza la piel de pacientes hospitalizados sobre todo en axila) (Knox y Holmes, 2002). Habitualmente presenta multirresistencia antibiótica, reduciendo las posibilidades terapéuticas.

C. kroppenstedtii. La primera descripción fue a partir de un aislado procedente de esputo de una mujer de 82 años. Posteriormente se ha aislado de un absceso de mama

(Riegel *et al.*, 2004), mastitis granulomatosa, enfermedad inflamatoria de origen desconocido, predominando este hallazgo en mujeres maoríes y de islas del Pacífico Sur (Taylor *et al.*, 2003; Kieffer *et al.*, 2006), en bacteriemia y en biopsia pulmonar (Tauch *et al.*, 2008).

C. lipophiloflavum. El único aislado descrito en 1997 fue de un cuadro de vaginosis atribuido a esta especie lipófila, ureásica, oxidativa y con colonias de pigmentación amarilla.

C. macginleyi. Se ha relacionado su aislamiento fundamentalmente de muestras oculares, tanto de conjuntiva sana como de conjuntivitis. Otros aislados procedieron de muestras genitourinarias (orina, uretra, semen y vagina), respiratorias (exudado nasal, esputo y lavado broncoalveolar), abscesos, sangre (cuadros de bacteriemia y endocarditis), LCR (catéter de derivación) y catéter endovenoso.

C. matruchotii. Es un patógeno humano infrecuente. Se ha aislado a partir de muestras de cavidad oral como flora no habitual, principalmente de cálculos y placas de depósito. Por su capacidad calcificante se ha relacionado con estenosis aórtica, reproducida en modelo animal (conejos de Nueva Zelanda) (Cohen *et al.*, 2004)

C. minutissimum. Se aísla de la flora normal de la piel y se ha aislado en procesos infecciosos como endoftalmitis, peritonitis, bacteriemia, endocarditis (Aperis y Moyssakis, 2007), meningitis (Dalal y Likhi, 2008), pielonefritis (Ahmad y Ahmad, 2005), infección del tracto respiratorio e infecciones de partes blandas como infección de herida superficial y celulitis y bacteriemia (Granok *et al.*, 2002), absceso costochondral en paciente inmunodeprimido (Bandera *et al.*, 2000) y dudosa asociación con eritrasma.

C. mucifaciens. Se ha aislado, junto a otras especies del género *Corynebacterium*, de la microflora normal cutánea de la axila (Taylor D *et al.*, 2003) y del polvo en granja, siendo motivo de interés la menor prevalencia de asma y atopia en niños que viven en este ambiente (Korthals *et al.*, 2008), pero también se plantea la posibilidad de patógeno respiratorio, por su inhalación. Se ha propuesto como agente potencial de otitis media secretora, sinusitis crónica y poliposis nasal (Morinaka *et al.*, 2006). La muestra de procedencia más frecuente de su aislamiento en cuadros infecciosos ha sido la sangre y otros líquidos estériles como líquido articular (artritis), peritoneal y de diálisis. También se ha aislado en infecciones de tejidos blandos como abscesos, heridas superficiales (por mordedura de gato), úlceras de pie diabético (Dowd *et al.*, 2008), biopsias de tejidos. “Closest to *C. mucifaciens*” es la

denominación de aislados de esta especie que no presentan las características fenotípicas normales, con colonias blanquecinas, pequeñas, no mucosas, y se han descrito bacteriemias, en algún caso de evolución fatal, por esta variante (Bernard *et al.*, 2002; Cantarelli *et al.*, 2006)

C. mycetoides. Patógeno humano muy infrecuente y conocido desde hace muchos años, Se ha comunicado su aislamiento de úlceras cutáneas (Collins (ex Castellani 1942), 1983) y no se ha hecho referencia alguna a esta especie en los manuales de Microbiología en los últimos años (Funke y Bernard, 1999).

C. propinquum. Forma parte de la flora normal orofaríngea y está considerado como patógeno respiratorio así como causa de endocarditis sobre válvula nativa. Ha sido la corinebacteria más frecuente en alguna serie publicada de bacteriemias (Babay *et al.*, 2004).

C. pseudodiphtheriticum. Forma parte de la flora normal orofaríngea. En alguna publicación se ha señalado como la especie del género *Corynebacterium* más frecuentemente aislada de muestras respiratorias (Riegel *et al.*, 1996) pudiendo ocasionar neumonía (ocasionalmente con formación de pseudomembranas que semeja difteria) y sobre todo neumonía extrahospitalaria (Chudnicka y Koziol-Montewka, 2003). Otras patologías ocasionadas han sido endocarditis, infección de piel, queratitis y conjuntivitis.

C. pseudotuberculosis. Aislada de linfadenitis ocupacional (manipuladores de ovejas). También puede ocasionar cuadros clínicos de afectación faríngea similar a difteria como ocurre con *C. ulcerans* y *C. imitans*. Algunas cepas pueden producir toxina diftérica.

C. resistens. Únicamente se han descrito cinco aislados procedentes de bacteriemia, celulitis y aspirado bronquial. Cuatro de las cinco cepas descritas presentaron multirresistencia antibiótica.

C. riegelii. Desde su descripción en 1998, esta infrecuente corinebacteria se había relacionado exclusivamente con ITU femenino (Ferrer *et al.*, 2001; Verdaguer *et al.*, 2008) hasta la publicación de Bernard *et al.*, en 2002, que recoge su aislamiento, por primera vez, de cultivos de sangre en tres casos: dos adultos y una sangre de cordón.

C. simulans. Se ha descrito su aislamiento en tres muestras clínicas: de un absceso de pie obtenido por punción y en cultivo puro, de una biopsia de nódulo linfático y de un forúnculo; Posteriormente se ha aislado también de sangre y bilis. Sin embargo su significado clínico no está claramente definido.

C. *singulare*. Los dos únicos aislados descritos procedían de sangre y semen sin información clínica añadida.

C. *striatum*. Había sido considerado como contaminante y de baja patogenicidad hasta la década de los 80, y sin embargo desde entonces ha sido creciente su valoración e implicación en diversas patologías infecciosas como meningitis (Weiss *et al.*, 1996) sepsis en adultos y niños (Adderson *et al.*, 2008), endocarditis sobre válvula nativa y protésica, neumonía, peritonitis (Ubaldi *et al.*, 2004), infecciones osteoarticulares y de orificio de salida de catéter de diálisis peritoneal (Clark *et al.*, 1999; Scholle, 2007; Roux *et al.*, 2004), infección de tejidos blandos (Adderson *et al.*, 2008) destacando como la corinebacteria más frecuente en la infección de pie diabético (Dowd *et al.*, 2008) e infección nosocomial (Renom *et al.*, 2007) que puede ser mediante transmisión persona–persona (Leonard *et al.*, 1994). Un aspecto a destacar es la aparición de aislados multirresistentes en las referencias bibliográficas más recientes (Otsuka *et al.*, 2006; Scholle, 2007; Dowd *et al.*, 2008) o niveles altos de CMI a nuevos antimicrobianos (Salas *et al.*, 2008).

C. *sundsvallense*. Se ha aislado de sangre, exudado vaginal, drenaje de senos paranasales y absceso de ingle.

C. *thomssenii*. Es una especie rara en infecciones humanas. Además del aislamiento descrito a partir de polvo medioambiental en Canadá, solo se ha descrito en un paciente diagnosticado de neumonía y fallo renal, procedente de forma repetida de líquido pleural.

C. *tuberculoestearicum*. Se ha aislado de tejido mamario de mastitis granulomatosa con predominio en mujeres polinesias, de nódulo inguinal (chancro blando), nódulo linfático, orina, sangre, uretra, líquido peritoneal, médula ósea, lesión cutánea (lepra lepromatosa y lesión no leprosa) y de úlceras de pie diabético (Dowd *et al.*, 2008).

C. *tuscaniae*. El único aislado descrito fue en tres muestras de sangre en un caso de endocarditis sobre válvula aórtica nativa.

C. *ulcerans*. Se ha descrito su implicación en infección de tejidos blandos (úlceras), sinusitis necrotizante y faringoamigdalitis con pseudomembranas, semejante a difteria. Pueden ser cepas productoras de toxina diftérica, como ocurre con *C. diphtheriae* y *C. pseudotuberculosis* (con la que está estrechamente relacionada, <2% de diferencia genética). En 2005 se identificó, por primera vez, cepas toxigénicas de *C. ulcerans* en secreción nasal de

gatos domésticos, pudiendo ser reservorio de infección humana (De Zoysa *et al.*, 2005) y se ha descrito un caso de difteria en paciente inmunodeprimido y en su perro (Lartigue *et al.*, 2005).

C. urealyticum. Es un patógeno oportunista (Marty *et al.*, 1991) que causa infecciones del tracto urinario (cistitis y pielonefritis aguda, cistitis y pielonefritis incrustante; asociación con presencia de cristales de estruvita y pH alcalino de la orina), bacteriemias en pacientes con pielonefritis, nefrolitiasis, nefrostomía percutánea (Chung *et al.*, 2008) y sin patología urológica (Soriano *et al.*, 1993a; Fernández-Natal *et al.*, 2001), HIV o neoplasias infección de tejidos blandos, osteomielitis, pericarditis, neumonía, peritonitis y endocarditis. Por otro lado, es un patógeno nosocomial, coloniza la piel de pacientes hospitalizados que han recibido tratamiento con antibióticos de amplio espectro mediante transmisión aérea y contacto (Soriano y Tauch, 2008; Soriano, 2009).

C. ureicelerivorans. La primera descripción de esta especie se hizo a partir de una cepa aislada de sangre en un paciente diagnosticado de sepsis (Yassin, 2007). Posteriormente se ha publicado su aislamiento en seis pacientes adultos con patología digestiva, inmunocomprometidos o no, en cinco bacteriemias y un caso de infección de líquido ascítico, destacando el alto porcentaje de resistencia a antibióticos del grupo MLS_B (Fernández-Natal *et al.*, 2008).

C. xerosis. La mayoría de los casos publicados antes de 1996 pudieron tratarse en realidad de cepas de *C. amycolatum* si no se identificaron por técnicas moleculares. Infrecuente patógeno humano, constituye flora normal de piel y exudados vaginales sin patología. Como causa de procesos infecciosos, se aisló en sangre (sepsis, endocarditis) (Cattani *et al.*, 2000; Pessanha *et al.*, 2003), absceso cerebral (Wooster *et al.*, 1999), artritis séptica postquirúrgica (Booth *et al.*, 1991), infecciones oculares por cuerpo extraño, lentes de contacto o cirugía refractiva (Macedo *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2006) y desfibrilador implantable (Marti *et al.*, 2008).

1.3.2. Otras especies del género *Corynebacterium*

Se han descrito 32 especies del género *Corynebacterium* aisladas de animales, vegetales o ambiente, 25 de las cuales recuperadas de muestras clínicas de animales sanos o enfermos. Entre estas últimas, 10 especies también han sido aisladas de muestras clínicas humanas (Tabla 17).

Tabla 17. Género *Corynebacterium*: 25 especies de origen animal.

<i>Corynebacterium</i> spp.	Origen: Animal	Referencia bibliográfica
<i>C. aquilae</i>	Águila (tracto respiratorio)	Fernández-Garayzábal <i>et al.</i> , 2003
<i>C. amycolatum</i> *	Vaca (mastitis)	Hommez <i>et al.</i> , 1999
<i>C. ammoniagenes</i> ^a	Rata y cabra. Ambiente (vagina y placa subgingival)	Collins, 1987
<i>C. auriscanis</i>	Perro	Collins <i>et al.</i> , 1999
<i>C. bovis</i> *	Bóvidos (pielonefritis y mastitis)	Bergey <i>et al.</i> , 1923 Watt y Rossbach, 2000 Dutly <i>et al.</i> , 2003
<i>C. camporealis</i>	Oveja	Fernández-Garayzábal <i>et al.</i> , 1998
<i>C. capitovis</i>	Oveja	Collins <i>et al.</i> , 2001
<i>C. caspium</i>	Foca mar Caspio	Collins <i>et al.</i> , 2004
<i>C. ciconiae</i>	Cigüeña negra (tráquea)	Fernández-Garayzábal <i>et al.</i> , 2004
<i>C. cystitidis</i>	Vaca	Yanagawa y Honda, 1978
<i>C. falsenii</i> *	Águila	Fernández-Garayzábal <i>et al.</i> , 2003
<i>C. felinum</i>	Gato salvaje	Collins <i>et al.</i> , 2001
<i>C. glucuronolyticum</i> *	Cerdo (tracto urogenital)	Devries <i>et al.</i> , 2000
<i>C. jeikeium</i> *	Gato doméstico ITU ^b	Puskar <i>et al.</i> , 2007
<i>C. kutcheri</i>	Rata y ratón (abscesos subcutáneos)	Bergey <i>et al.</i> , 1923
<i>C. mastitidis</i>	Leche de oveja (mastitis subclínica)	Fernández-Garayzábal <i>et al.</i> , 1997
<i>C. minutissimum</i> *	Vaca (mastitis)	Hommez <i>et al.</i> , 1999
<i>C. phocae</i>	Foca común	Pascual <i>et al.</i> , 1998
<i>C. pilosum</i>	Vaca	Yanagawa y Honda, 1978
<i>C. pseudotuberculosis</i> *	Équidos, bóvidos, óvidos	Eberson, 1918
<i>C. sphenisci</i>	Pingüino salvaje	Goyache <i>et al.</i> , 2003a
<i>C. spheniscorum</i>	Pingüino salvaje	Goyache <i>et al.</i> , 2003b
<i>C. ulcerans</i> *	Vaca (mastitis). Gato (nasofaringe) Perro (nasofaringe)	Hommez <i>et al.</i> , 1999 De Zoysa <i>et al.</i> , 2005 Lartigue <i>et al.</i> , 2005
<i>C. urealyticum</i> *	Perro y gato ITU ^b	Gómez <i>et al.</i> , 1995 Bailiff <i>et al.</i> , 2005
<i>C. xerosis</i> *	Cerdo, cabra	Vela <i>et al.</i> , 2006

*También relacionada con medicina humana (10 especies); ^a antes, *Brevibacterium ammoniagenes*; ^b infección del tracto urinario.

De las 10 especies de origen animal que comparten aislamiento en muestras de origen humano, destacan *C. urealyticum* y *C. jeikeium* que pueden estar involucradas en ITU animal (Bailiff *et al.*, 2007; Puskar *et al.*, 2007) y humana (así como no-urinaria) (Soriano *et al.*, 1990;

Soriano *et al.*, 1993; Fernández-Natal *et al.*, 2001; Tauch *et al.*, 2005) y en infección nosocomial por su transmisión a través del aire o por contacto, colonizar la piel de pacientes hospitalizados y posteriormente ser causa de infección (Nieto *et al.*, 1996; Rosato *et al.*, 2001; Soriano y Tauch, 2008).

No se han aislado 24 de estas especies a partir de muestras clínicas humanas: 15 solo en animales y nueve solo en vegetales o ambiente (Tablas 17 y 18).

En la Tabla 18, se exponen las 14 especies aisladas de plantas o ambiente, seis de ellas son agentes causales de patología infecciosa humana.

Tabla 18. Género *Corynebacterium*: 14 especies de origen vegetal y/o ambiental.

<i>Corynebacterium</i> spp.	Origen: Vegetal y/o Ambiental	Referencia bibliográfica
<i>C. callunae</i>	Plantas	Yamada y Komagata, 1972
<i>C. casei</i>	Superficie de quesos	Brennan <i>et al.</i> , 2001
<i>C. efficiens</i>	Plantas y suelo	Fudou <i>et al.</i> , 2002
<i>C. glaucum</i>	Colorante de cosmético	Yassin <i>et al.</i> , 2003
<i>C. glutamicum</i>	Plantas. Ambiente	Abe <i>et al.</i> , 1967
<i>C. halotolerans</i>	Suelo en China	Chen <i>et al.</i> , 2004
<i>C. jeikeium</i> *	Ambiente hospitalario	Rosato <i>et al.</i> , 2001; Tauch <i>et al.</i> , 2005
<i>C. mooreparkense</i> (sinónimo de <i>C. variabile</i>)	Superficie de quesos	Brennan <i>et al.</i> , 2001 Gelsomino <i>et al.</i> , 2005
<i>C. mucifaciens</i> *	Polvo ambiente en granja	Korthals <i>et al.</i> , 2008
<i>C. mycetoides</i> *	Plantas	(Ex Castellani 1942) Collins, 1983
<i>C. terpenotabidum</i>	Suelo; degrada escaleno	Takeuchi <i>et al.</i> , 1999
<i>C. thomsseni</i> *	Aire	Bernard <i>et al.</i> , 2002
<i>C. tuberculoestearicum</i> *	Atún enlatado (alimento) Polvo ambiente en granja	Feurer <i>et al.</i> , 2004 Korthals <i>et al.</i> , 2008
<i>C. urealyticum</i> *	Ambiente hospitalario	Nieto <i>et al.</i> , 1996 Soriano y Tauch, 2008
<i>C. vitaeruminis</i> ^a	Ecosistemas lácteos	Trüper y De'Clari, 1997

*: También relacionado con medicina humana (seis especies). ^a antes, *Brevibacterium vitarumen*

En la Tabla 19 se recogen los cambios taxonómicos en las especies y subespecies del género *Corynebacterium*, por tratarse de sinónimos o ser excluidas de este género.

Tabla 19. Cambios en la taxonomía de especies del género *Corynebacterium*.

Taxonomía previa	Taxonomía actual	Año	Origen ^a
<i>Corynebacterium aquaticum</i> ^b	<i>Leifsonia aquatica</i>	2000	H
<i>Corynebacterium beticola</i> ^c	<i>Erwinia herbicola</i>	1980	V
	<i>Pantoea agglomerans</i> (sin validación)	1989	
<i>Corynebacterium equi</i> ^c	<i>Rhodococcus equi</i>	1983	A, H
<i>Corynebacterium fascians</i> ^c	<i>Rhodococcus fascians</i>	1984	A, H
<i>Corynebacterium flaccumfaciens</i> subsp. <i>betae</i> ^c	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	1983	
<i>Corynebacterium flaccumfaciens</i> subsp. <i>oortii</i> ^c	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	1984	V
<i>Corynebacterium flaccumfaciens</i> subsp. <i>poinsettiae</i> ^c	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	1983	
<i>Corynebacterium hoagii</i> , <i>Corynebacterium equi</i> ^c	<i>Rhodococcus equi</i>	1977	A, H
<i>Corynebacterium ilicis</i> ^c	<i>Arthrobacter ilicis</i>	1982	V
<i>Corynebacterium insidiosum</i> ^c	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>Insidiosus</i>	1984	V
<i>Corynebacterium michiganense</i> ^c	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	1984	V
	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>nebraskensis</i>	1984	V
	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	1982	V
	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>tessellarius</i>		
<i>Corynebacterium iranicum</i> ^c	<i>Rathayibacter iranicus</i>	1993	V
<i>Corynebacterium lilium</i> ^c	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	1991	V
<i>Corynebacterium mooreparkense</i>	<i>Corynebacterium variabilis</i>	2005	V
<i>Corynebacterium paurometabolum</i> ^c	<i>Tsukamurella paurometabola</i>	1988	A
<i>Corynebacterium pyogenes</i> ^c	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	1997	H
<i>Corynebacterium rathayi</i> ^c	<i>Rathayibacter rathayi</i>	1993	V
<i>Corynebacterium sanguinis</i> ^d	<i>Brevibacterium sanguinis</i>	2004	H
<i>Corynebacterium tritici</i> ^b	<i>Rathayibacter tritici</i>	1993	V

^a humano (H), animal (A), vegetal o ambiental (V); ^b (Evtushenko *et al.*, 2000); ^c Disponible en: www.bacterio.cict.fr/c/corynebacterium.html; ^d (Wautters *et al.*, 2004).

1.4 IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO *Corynebacterium*

En taxonomía bacteriana, es necesaria la identificación polifásica (Tabla 20) que utiliza conjuntamente criterios fenotípicos y genotípicos (Vandamme *et al.*, 1996; Rodicio y Mendoza, 2004; Bernard, 2005).

Tabla 20. Esquema de taxonomía polifásica propuesto por Vandamme *et al.*, 1996.

Información FENOTÍPICA			
RASGOS EXPRESADOS		MARCADORES QUIMIOTAXONOMICOS	
Morfología Fisiología (API, Biolog, etc.) Enzimología Serología		Ácidos grasos celulares Ácidos micólicos Lípidos polares Quinonas Poliaminas Componentes de la pared celular Exopolisacáridos	
Información GENOTÍPICA			
Análisis del perfil PROTEICO	Análisis de BIOMOLÉCULAS		
	ARN	ADN	
		Total	Segmentos
- Análisis electroforético de las proteínas celulares totales o las de la cubierta (uni- o bidimensional) - Análisis electroforético enzimático	- Secuenciación de bases - Perfiles de bajo peso molecular.	- Contenido G+C mol% - Análisis de restricción (RPLP, PFGE) - Genoma - Hibridación ADN-ADN	- Fingerprinting (Ribotipado, ARDRA, RAPD, AFLP) - Sondas ADN - Secuenciación ADN

1.4.1 Identificación fenotípica

Atiende a aspectos morfológicos, bioquímicos y quimiotaconómicos.

Identificación morfológica

La observación microscópica y macroscópica aporta la información inicial, básica y de gran valor para la identificación del género *Corynebacterium*.

Tinción de Gram. Prueba capital, rápida y barata, que permite conocer la morfología bacteriana, incluyendo/excluyendo en un determinado género, e, incluso, orientar o asignar una especie. Se observan bacilos grampositivos, irregularmente teñidos en forma de maza, “coryne”, a excepción de las cinco especies descritas anteriormente: *C. durum* (largos, filamentosos, en ocasiones con ensanchamientos), *C. matruchotii* (filamentosos, semejante a

un látigo), *C. sundsvallense* (protuberancias en los extremos), *C. atypicum* (pleomórficos, cortos, agrupados en pares, extremo con extremo, cadenas, o filamentos curvados con extremos engrosados) o *C. tuberculoestearicum* (bacilos grampositivos con uno de sus extremos hinchados).

Características del cultivo. Velocidad de crecimiento (desde 18-24 h a 72-96 h). Morfología de las colonias: húmedas o secas, pigmentación (Tabla 21), bordes lisos o rugosos, brillante o mate, opaca o traslúcida como *C. diphtheriae* biotipo *intermedius* y *C. kroppenstedtii*, tamaño, hemólisis (*C. ulcerans*), satelitismo (*C. accolens*), o adherencia al agar, esta última característica solo presente en algunas especies: *C. auris*, *C. aurimucosum*, *C. durum*, *C. sundsvallense* y *C. thomssenii*. Posibilidad de crecimiento en anaerobiosis, o a diferentes temperaturas (20°, 37° o 42°), (Wauters *et al.*, 1998) y en determinados medios de cultivo utilizados en la práctica diaria o no como agar chocolate y manitol (rasgo infrecuente y diagnóstico, la posibilidad de fermentar manitol en *C. accolens*, *C. durum*, *C. macginleyi*, *C. minutissimum* y *C. singulare*) o formación de precipitados coraloides como *C. aurimucosum*, en agar BHI con 1% de Tween 80, en atmósfera de aerobiosis o CO₂. La observación de las colonias nos permite dirigir su identificación.

Tabla 21. Clasificación fenotípica de corinebacterias atendiendo a la pigmentación y consistencia de las colonias.

Pigmentación	Colonias húmedas, bordes lisos	Colonias secas
Amarilla	<i>C. aurimucosum</i> ^a (en medio con sangre) <i>C. falsenii</i> (intenso, en incubación prolongada) <i>C. lipophiloflavum</i> <i>C. mucifaciens</i> (muy mucosa) <i>C. pseudotuberculosis</i> (pigmento tenue)	<i>C. auris</i> (incubación prolongada. Leve adherencia) <i>C. freneyi</i> (V) <i>C. hansenii</i> <i>C. sundsvallense</i> <i>C. xerosis</i>
Marrón	<i>C. striatum</i> ^b	
Negra	<i>C. aurimucosum</i> (sinónimo de <i>C. nigricans</i>) (muy adherentes)	
Rosa	<i>C. aurimucosum</i> (precipitados coraloides en agar BHI con 1% de Tween 80)	<i>C. macginleyi</i> ^c

(V) Variable, también pueden ser gris-blanquecino. ^a En TSA, sin color. ^b Algunas cepas descritas en infección nosocomial, todas ellas CAMP positiva (Leonard *et al.*, 1994). ^c En medio de SBA suplementado con 0,1% de Tween 80.

Identificación bioquímica

Los sistemas bioquímicos de identificación están basados en resultados previos del CDC (Laboratorio especial de referencia de Bacteriología) (Hollis y Weaver, 1981). Estos sistemas incluyen:

Catalasa. Positiva en todas las bacterias del género *Corynebacterium*.

Oxidasa. Negativa en todas, excepto en *C. bovis*.

Movilidad. Todas las especies del género *Corynebacterium* médicamente relevantes son inmóviles (Funke y Bernard, 2007).

Determinación del metabolismo fermentativo (F) u oxidativo, no fermentativo (O).

Mediante el medio semisólido CTA (Cistina Tripticasa Agar), o en tubo de TSI (Triple azúcar hierro) o medio oxidación/fermentación. La interpretación: si producción de ácido en todo el tubo, se trata de fermentación; si sólo en la superficie, de oxidación (Funke y Bernard, 2007).

Lipofilia. Se denomina como corinebacteria lipófila aquella que requiere la presencia de ácidos grasos exógenos para su desarrollo en medios de cultivo. El crecimiento incipiente en agar o en caldo a las 24 h de incubación orienta hacia una posible especie lipófila. Se puede realizar en medio sólido SBA o suplementado con 0,1-1% de Tween 80, observándose colonias de >2 mm de diámetro en la placa suplementada, o en medio líquido: BHI y BHI suplementado con 1% de Tween 80, observando turbidez (crecimiento) sólo en el tubo suplementado en caso de ser una cepa lipófila después de 24-72 h de incubación.

La combinación de lipofilia y tipo de metabolismo F/O, permite una clasificación fenotípica muy útil para el diagnóstico diferencial de las corinebacterias con relevancia médica humana. Janda, en 1998, clasificó 24 diferentes especies atendiendo a estos parámetros. En la Tabla 22 se exponen las 44 reconocidas en la actualidad, 15 de ellas lipófilas.

Tabla 22. Clasificación fenotípica de las corinebacterias con relevancia en patología infecciosa humana en función del metabolismo oxidativo/fermentativo y la lipofilia.

FERMENTATIVO		OXIDATIVO (no fermentativo)
NO LIPOFILIA	<i>C. amycolatum</i>	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i>
	<i>C. argentoratense</i>	<i>C. auris</i>
	<i>C. atypicum</i>	<i>C. mucifaciens</i>
	<i>C. aurimucosum</i>	<i>C. propinquum</i>
	<i>C. confusum</i>	<i>C. pseudodiphtheriticum</i>
	<i>C. coyleae</i>	<i>C. tuscaniae</i>
	<i>C. diphtheriae</i> biotipo <i>gravis</i> , <i>mitis</i> y <i>belfanti</i>	
	<i>C. durum</i>	
	<i>C. falsenii</i>	
	<i>C. freneyi</i>	
	<i>C. glucuronolyticum</i>	
	<i>C. hansenii</i>	
	<i>C. imitans</i>	
	<i>C. matruchotii</i>	
	<i>C. minutissimum</i>	
	<i>C. pseudotuberculosis</i>	
	<i>C. riegelii</i>	
	<i>C. simulans</i>	
	<i>C. singulare</i>	
	<i>C. striatum</i>	
	<i>C. sundsvallense</i>	
	<i>C. thomssenii</i>	
	<i>C. ulcerans</i>	
	<i>C. xerosis</i>	
LIPOFILIA	<i>C. appendicis</i> ^a	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>lipophilum</i>
	<i>C. accolens</i>	<i>C. bovis</i>
	CDC grupo F1	<i>C. jeikeium</i>
	CDC grupo G	<i>C. lipophiloflavum</i>
	<i>C. diphtheriae</i> biotipo <i>intermedius</i>	<i>C. urealyticum</i>
	<i>C. kroppenstedtii</i>	
	<i>C. macginleyi</i>	
	<i>C. resistens</i>	
	<i>C. tuberculoestearicum</i>	
	<i>C. ureicelerivorans</i>	

^a *C. appendicis* presenta un metabolismo fermentativo muy lento, en incubación de API Coryne™ V2.0 durante siete días, fermenta glucosa y maltosa.

Hidrólisis de urea (24 h de incubación). Su positividad orientará hacia un número reducido de especies, 15 en total (Tabla 23) y cinco de ellas lipófilas (Tabla 10). Destacan por su expresión rápida *C. riegelii*, *C. urealyticum* y *C. ureicelerivorans*, esta última, de lectura en la galería API Coryne™ V2.0 en aproximadamente 60 seg.

Hidrólisis de esculina (48 h de incubación). Solo cuatro corinebacterias (Tabla 23) tienen esta capacidad. Es una prueba positiva constante en *C. kroppenstedtii*, dato diagnóstico importante para esta especie.

Tabla 23. Características fenotípicas de corinebacterias que proporcionan información importante para su discriminación.

Hidrólisis de urea ^a	Hidrólisis de esculina ^a	Hidrólisis de tirosina ^a	Hidrólisis de hipurato ^a
<i>C. amycolatum</i> V	<i>C. durum</i> V	<i>C. aurimucosum</i>	<i>C. aurimucosum</i>
<i>C. appendicis</i>	<i>C. glucuronolyticum</i> V	<i>C. minutissimum</i>	<i>C. tuscaniae</i>
CDC gr. F1	<i>C. kroppenstedtii</i>	<i>C. propinquum</i>	<i>C. ureicelerivorans</i>
<i>C. durum</i> V	<i>C. matruchotii</i> V	<i>C. pseudodiphtheriticum</i> V	
<i>C. falsenii</i> (+)		<i>C. singulare</i>	
<i>C. glucuronolyticum</i> V		<i>C. striatum</i>	
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>			
<i>C. pseudotuberculosis</i>			
<i>C. riegelii</i>			
<i>C. singulare</i>			
<i>C. sundsvallense</i>			
<i>C. thomssenii</i>			
<i>C. ulcerans</i>			
<i>C. urealyticum</i>			
<i>C. ureicelerivorans</i>			

^a variable (V). Reacción positiva lenta o débil (+)

Reacción de CAMP (Christie-Atkins-Munch-Peterson) (24 h de incubación o menos) con una cepa β -hemolítica de *Staphylococcus aureus* (cepa ATCC 25923). El resultado de esta prueba puede ser positivo, inverso o inhibido y negativo. En caso de positividad, se observa un aumento de la hemólisis completa de *S. aureus* en forma de punta de flecha. En la Tabla 24 se recogen las 10 especies en que esta reacción puede ser positiva o inversa. Solo una corinebacteria lipófila, *C. afermentans* subsp. *lipophilum*, puede presentar esta reacción positiva y de forma variable.

Reducción de nitratos (24 h de incubación).

Reducción de nitritos. La única especie que da positiva esta prueba es *C. simulans*.

Tabla 24. Diagnóstico diferencial de corinebacterias partiendo de la reacción de CAMP positiva o invertida, en combinación con otras pruebas.

<i>Corynebacterium</i> spp.	Reacción CAMP ^a	Otras pruebas bioquímicas.
<i>C. auris</i>	+	Glucosa, ribosa negativa a las 48 h
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i>	V	Glucosa, ribosa negativa a las 48 h
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>lipophilum</i>	V	Lipófila
<i>C. coyleae</i>	+	Glucosa, ribosa positiva y maltosa negativa a las 48 h
<i>C. glucuronolyticum</i>	+	βGUR positiva. Hidrólisis de esculina V
<i>C. imitans</i>	+	Maltosa positiva. PYZ débilmente positiva
<i>C. minutissimum</i> (muy pocas cepas)	+	DNAsa positiva. Hidrólisis de tirosina positiva. Sensible a O/129 ^b
<i>C. striatum</i>	V	Reducción de nitrato positivo. Hidrólisis de tirosina positiva Asimilación de PAC positiva. Crecimiento en agar sangre 20°C/ 3 d
<i>C. pseudotuberculosis</i>	INV	Hidrólisis de urea, maltosa positiva. TD puede ser positiva. Resistente a O/129 ^b
<i>C. ulcerans</i>	INV	Hidrólisis de urea, maltosa y glucógeno positiva. TD puede ser positiva. Sensible a O/129 ^b

^a: positiva (+), variable (V), inversa (INV). ^b Factor vibriostático (disco de 150 µg)

Producción de pirazinamidas. En todas las corinebacterias está presente excepto en: *C. atypicum*, *C. macginleyi*, *C. resistens* y las tres especies con capacidad de producir TD: *C. diphtheriae*, *C. pseudotuberculosis* y *C. ulcerans*.

Producción de ácido a partir de hidratos de carbono, principalmente: glucosa, maltosa, sacarosa, manitol y xilosa. Los resultados se interpretarán a las 48 h de incubación para evitar falsos negativos e identificaciones erróneas. Cuando se sospecha *C. appendicis* se prolongará la incubación hasta 7 días. Un rasgo distintivo importante en la orientación identificativa es la infrecuente fermentación de glucógeno. Es positiva en *C. diphtheriae* biotipo *gravis*, *C. ulcerans* y variable en *C. freneyi* (Funke y Frodl, 2008).

Otras pruebas individuales complementarias:

Hidrólisis de tirosina. Prueba diferencial en determinadas especies que comparten otros rasgos fenotípicos (Tabla 23).

Detección de DNAsa. La positividad de esta prueba en *C. minutissimum*, sirve para descartar *C. striatum*, ambas fermentativas, no lipófilas, de colonias húmedas y bordes lisos, que hidrolizan tirosina.

Fermentación de fructosa. Esta prueba es útil en la discriminación fenotípica entre cuatro especies lipófilas, con ácidos micólicos y TBSA en su pared, capacidad ureásica y colonias pequeñas de crecimiento lento: *C. urealyticum*, *C. ureicelerivorans*, *C. appendicis* y *C.*

bovis siendo únicamente positiva en esta última. Por otro lado, sirve para diferenciar a otras dos especies lipófilas que pueden presentar multirresistencia antibiótica: *C. jeikeium* (negativa) y CDC gr G (positiva).

Hidrólisis del hipurato. Puede servir para diferenciar *C. aurimucosum* (positiva) de *C. minutissimum* (negativa); *C. ureicelerivorans* (positiva) de *C. urealyticum*, *C. bovis* y *C. appendicis* (negativa) y a *C. tuscaniae* (positiva) de *C. coyleae* y *C. minutissimum* (negativa) (Tabla 23).

Sensibilidad al factor vibriostático O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropilpteridina), disco de 150 µg. (Renaud *et al.*, 1998). Orienta en la diferenciación fenotípica, junto con otros rasgos, de corinebacterias fermentativas no lipófilas estrechamente relacionadas tanto desde el punto de vista bioquímico como en la clínica. Puede servir para discriminar *C. amycolatum* (resistente) de *C. freneyi*, *C. hansenii* y *C. xerosis*, (sensibles) todas de colonias secas y bordes irregulares, y de *C. minutissimum* y *C. striatum*, (sensibles) de colonias húmedas y bordes enteros (Tablas 8 y 9). Se ha mostrado útil en la diferenciación entre cuatro especies que pueden ser el agente etiológico de cuadros clínicos de manifestación similar: *C. diphtheriae* y *C. ulcerans* (sensibles) de *C. pseudotuberculosis* y *C. imitans* (resistentes), las tres primeras pueden producir TD (Tabla 14).

Otros rasgos fenotípicos, no bioquímicos ni de sensibilidad, como la **multirresistencia antimicrobiana** puede orientar hacia la identificación de *C. amycolatum*, *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, CDC gr G, *C. glucuronolyticum*, *C. striatum* (Otsuka *et al.*, 2006) o *C. resistens*.

Sistemas comerciales de identificación bioquímica

Existen, al menos, seis sistemas comerciales para la identificación bioquímica de corinebacterias y han sido evaluados a excepción de MicroScan™.

API Coryne™ V2.0 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia). Su base de datos contiene 49 taxones. Los resultados de un estudio multicéntrico demostraron que el 90,5% de las cepas estudiadas fueron correctamente identificadas, el 55,1% necesitaron pruebas complementarias, el 5,6 % no se identificaron y el 3,8% la identificación fue errónea. (Funke *et al.*, 1997e). Identifica 16 especies individuales de corinebacterias, en 3 ocasiones no discrimina por sí sólo

entre dos especies y en un caso entre dos biotipos de la misma especie. No están incluidas en su base de datos 25 especies, no actualizada/revisada desde 1994 (Soto *et al.*, 1994), debido fundamentalmente a la frecuente descripción de nuevas especies (Tabla 25).

Sin embargo, aunque una especie no conste en su base de datos o no la identifique individualmente, el resultado de una determinada prueba enzimática o producción de ácido a partir de un azúcar (positivo/negativo), en este sistema ampliamente utilizado, orienta hacia un reducido número de especies a la vez que se valoren otros datos fenotípicos y se realicen pruebas complementarias. Esto es así con la presencia de enzima α GLU, β GUR, N- Acetal- β -Glucosaminidasa (β NAG), y la fermentación de manitol y glucógeno (Tabla 26).

Tabla 25. Identificación de corinebacterias mediante el sistema API Coryne™ V2.0 (bioMérieux) (núm.).

Identificación individual (16)	Identificación con dualidad (4)	No identificación (25)
<i>C. accolens</i>	<i>C. afermentans/coyleae</i>	<i>C. atypicum</i>
<i>C. argentoratense</i>	<i>C. auris/T. otitidis</i> ,	<i>C. appendicis</i>
<i>C. bovis</i>	<i>C. striatum/amycolatum</i>	<i>C. aurimucosum</i>
<i>C. diphtheriae</i> biotipo <i>gravis</i>	<i>C. diphtheriae</i> biotipos <i>mitis/belfanti</i>	<i>C. confusum</i>
<i>C. glucuronolyticum</i>		<i>C. diphtheriae</i> biotipo <i>intermedius</i>
CDC grupo F1		<i>C. durum</i>
CDC grupo G		<i>C. falsenii</i>
<i>C. jeikeium</i>		<i>C. freneyi</i>
<i>C. kutcheri</i>		<i>C. hansenii</i>
<i>C. macginleyi</i>		<i>C. imitans</i>
<i>C. propinquum</i>		<i>C. kroppenstedtii</i>
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>		<i>C. lipophiloflavum</i>
<i>C. pseudotuberculosis</i>		<i>C. matruchotii</i>
<i>C. renale</i>		<i>C. minutissimum</i>
<i>C. ulcerans</i>		<i>C. mucifaciens</i>
<i>C. urealyticum</i>		<i>C. resistens</i>
		<i>C. riegelii</i>
		<i>C. singulare</i>
		<i>C. simulans</i>
		<i>C. sundsvallense</i>
		<i>C. tuberculoestearicum</i>
		<i>C. thomssenii</i>
		<i>C. tuscaniae</i>
		<i>C. ureicelerivorans</i>
		<i>C. xerosis</i>

Tabla 26. API Coryne™ V2.0: identificación de especies de corinebacterias en función de la infrecuente positividad o negatividad de ciertas pruebas enzimáticas o fermentación de hidratos de carbono.

αGLU positiva	βGUR positiva	βNAG positiva	Manitol ^a	Glucógeno ^a	PYZ negativa
<i>C. amycolatum</i> V	<i>C. atypicum</i>	<i>C. thomssensii</i>	<i>C. accolens</i>	<i>C. diphtheriae</i>	<i>C. atypicum</i>
<i>C. diphtheriae</i>	<i>C. glucuronolyticum</i>		<i>C. frenetii</i> V	biotipo <i>gravis</i> ^b	<i>C. macginleyi</i>
<i>C. frenetii</i>			<i>C. durum</i>	<i>C. ulcerans</i> ^b	<i>C. resistens</i>
<i>C. pseudotuberculosis</i>			<i>C. matruchotii</i>	<i>C. frenetii</i> V	<i>C. diphtheriae</i> ^b
<i>C. sundsvallense</i>			<i>C. macginleyi</i>		<i>C. pseudotuberculosis</i> ^b
<i>C. ulcerans</i>			<i>C. minutissimum</i>		<i>C. ulcerans</i> ^b
<i>C. xerosis</i>			<i>C. singulare</i>		

α-glucosidasa (αGLU). β-Glucuronidasa (βGUR). N-acetil-β-Glucosaminidasa (βNAG). ^a Fermentación Pirazinamidasa (PYZ),

^b Producción de toxina diftérica.

Biolog GP™ (Biolog, Hayward, California, Estados Unidos). La versión 3.50 identificaba el 60% a nivel de género o género y especie después de 24 h de incubación (Linndemann *et al.*, 1995). Su base de datos y aspectos tecnológicos han sido mejorados recientemente con la versión 3.70, con incubación de 4 h e identificación de taxones que no se logran con API Coryne™. Puede servir como procedimiento adjunto en la investigación taxonómica de bacterias corineformes.

BBL Crystal™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, Estados Unidos). (Bernard, 2005). Se trata de un sistema de identificación manual o semiautomático que dispone de diferentes paneles cerrados, uno de ellos para bacterias aerobias Grampositivas pertenecientes a 24 géneros incluyendo *Corynebacterium*.

Rapid CB Plus™ (Remel, Lenexa, Kansas, Estados Unidos). Identifica correctamente el 80,9% de las cepas a nivel de género y especie, y un 12,2% a nivel de género (Funke *et al.*, 1997e).

Vitek 2™ (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia). Sistema automático con una base de datos limitada para bacterias corineformes. Versión actualizada recientemente que utiliza una nueva tarjeta (ANC) válida para anaerobios y corinebacterias (ocho especies individualizadas). Se ha realizado un estudio comparativo entre los resultados de identificación obtenidos mediante esta nueva tarjeta frente a los obtenidos por secuenciación del gen 16S rADN de 365 corinebacterias aisladas de muestras clínicas y otras nueve cepas ATCC. La identificación fenotípica mediante este sistema automático coincidió con la genotípica en el 95,1%, no

coincidió en el 4,9% y no identificó el 0,3% de las cepas. Se observó fallo en la identificación de *C. striatum* ATCC 6940 de manera repetida (Rennie *et al.*, 2008).

MicroScan™ (Siemens Healthcare Diagnostics. Deerfield, IL. Estados Unidos). Sistema automático con una base de datos limitada para bacterias corineformes. No ha sido evaluado.

Algunos sistemas comerciales, aunque normalmente se utilizan para la identificación de bacterias Gramnegativas, modificando su procedimiento pueden dar información de pruebas complementarias útiles para el diagnóstico diferencial de corineformes. Así como, **API 50 CH** (bioMérieux), permite diferenciar *Brevibacterium* spp. y algunos *Arthrobacter* spp. (Funke *et al.*, 1997e) y **API NE** (bioMérieux, Marcy l'Etoile. Francia) que permite diferenciar corinebacterias fermentativas no lipófilas estrechamente relacionadas y no reconocidas individualmente en API Coryne™ V2.0, como *C. striatum*, *C. amycolatum* y *C. minutissimum*, mediante la observación de la asimilación de maltosa, N-acetil-glucosamina (NAG) y de fenilacetato (PAC) (Renaud *et al.*, 1998).

Para la interpretación y validación de los resultados obtenidos mediante sistemas comerciales, es importante la correlación con las características macroscópicas del cultivo y la tinción de Gram, y en ocasiones es necesario combinar esta información con pruebas complementarias individuales, que no se adaptan a la rutina de un laboratorio asistencial, consume tiempo y conlleva juicios subjetivos (Funke *et al.*, 1997e; Funke *et al.*, 1997f).

Técnicas quimiotaxonómicas o análisis de la pared celular

Se realizan en laboratorios de referencia para la caracterización de una nueva especie de corinebacteria, establecer el diagnóstico diferencial con otro género o descartar que una bacteria sea del género *Corynebacterium* (Funke y Bernard, 2003). En la Tabla 27 se sintetiza la caracterización quimiotaxonómica del género *Corynebacterium*.

La detección de ácidos micólicos se puede realizar mediante cromatografía en capa fina, cromatografía de gas, espectrometría de masa, o cromatografía líquida de alta resolución (de Briel *et al.*, 1992; Barreau *et al.*, 1993; Voisin *et al.*, 2002). Sirve para diferenciar *Corynebacterium* spp. (ácidos micólicos de 22 a 36 átomos de carbono) de bacterias parcialmente ácido alcohol-resistentes (ácidos micólicos de 30 a 78 átomos de carbono).

Tabla 27. Caracterización quimiotaxonómica para identificación de *Corynebacterium* spp. y su diferenciación de otras bacterias corineformes.

Método	Observación	Comentario
Composición de ácidos grasos celulares	Permite diferenciar <i>Corynebacterium</i> sp. de otras bacterias corineformes a nivel de género	<i>Corynebacterium</i> spp.: La mayoría son saturados o monoinsaturados (16: 0, 18:1cis9). Otras corineformes: la mayoría son de cadena ramificada (i15:0, a15:0)
Ácidos micólicos	Todas las especies del género <i>Corynebacterium</i> tienen ácidos corinomicólicos a excepción de: <i>C. amycolatum</i> <i>C. atypicum</i> <i>C. kroppenstedtii</i>	Otras corineformes: carecen de ácidos corinomicólicos.
Otros marcadores quimiotaxonómicos	Lípidos polares Menaquinonas Tipos de azúcar de la pared celular. Especies de ácido diaminopimélico.	

Para identificación a nivel de género de las bacterias corineformes es útil la detección de ácido *meso*-diaminopimélico (*m*-DAP), (presente en *Corynebacterium*, *Turicella*, *Brevibacterium* y *Dermabacter*), tipo de menaquinonas o presencia de arabinogalactano (positiva en los géneros *Corynebacterium* y *Turicella*).

El análisis de ácidos grasos celulares mediante cromatografía gas-líquido con el sistema Sherlock de MIDI (Newark, DE), es muy útil para la identificación de corinebacterias a nivel de género, aunque a nivel de especie puede resultar más difícil, debido a que estos perfiles de las bacterias corineformes del mismo género están estrechamente relacionadas y los perfiles cuantitativos dependen de las condiciones de incubación. La evaluación recientemente realizada con este sistema en 21 especies del género *Corynebacterium* concluye que la mayoría de ellas presentan un perfil cualitativo diferente y que *C. coyleae* (subgrupo 1), *C. riegelii*, *C. simulans* y *C. imitans* difieren sólo cuantitativamente. *C. afermentans* subsp. *afermentans* y *C. coyleae* (subgrupo 2) presentaron un perfil cualitativo y cuantitativo similar (Van den Velde *et al.*, 2006), creando una nueva base de datos, CLIN 40.

La determinación de TBSA es útil para el diagnóstico de género ya que sólo está presente en el género *Turicella* (*T. otitidis*, única especie) y algunas especies del género *Corynebacterium*: *C. appendicis*, *C. bovis*, *C. confusum*, *C. kroppenstedtii*, *C. minutissimum* (algunas cepas), *C. mucifaciens*, *C. urealyticum* y *C. ureicelerivorans*.

1.4.2 Identificación genotípica

Los sistemas de identificación de corinebacterias basados en la genética molecular están en continuo desarrollo y se están utilizando de manera creciente en los laboratorios de Microbiología. Permiten identificar y diferenciar especies estrechamente relacionadas. El más utilizado es el análisis de la secuencia del gen 16S rADN (Drancourt *et al.*, 2000).

Secuenciación del gen 16S ADN ribosomal (16S rADN).

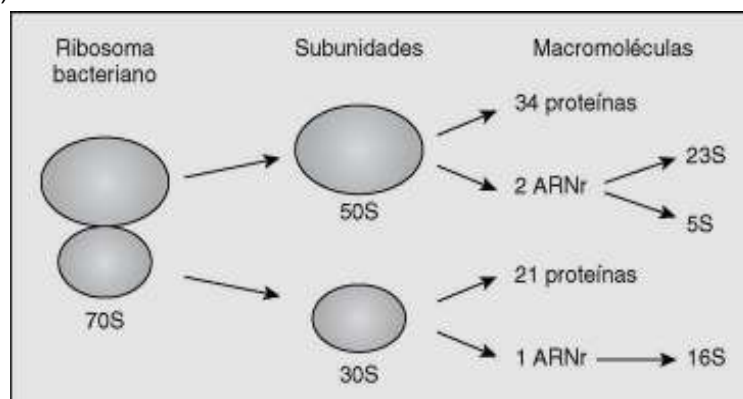
Es la más utilizada en el diagnóstico genotípico bacteriano en general. La comparación de las secuencias de los genes 16S rADN o de los que los codifican, permite:

a) Establecer las relaciones filogenéticas existentes entre los organismos procariotas. Este hecho ha tenido una gran repercusión en la taxonomía bacteriana, dando lugar al sistema de clasificación vigente en los tratados fundamentales de Bacteriología, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology y The Prokaryotes. Disponibles en <http://www.springer-ny.com/bergeysoutline/main.htm> y <http://www.prokaryotes.com> respectivamente.

b) La identificación rápida y precisa de las bacterias. En Microbiología Clínica, la identificación molecular basada en la secuenciación del gen 16S rADN se utiliza para bacterias cuya identificación por otro tipo de técnicas resulta imposible, difícil o requiere mucho tiempo, hecho que sucede en difteromorfos en general y en corinebacterias en particular.

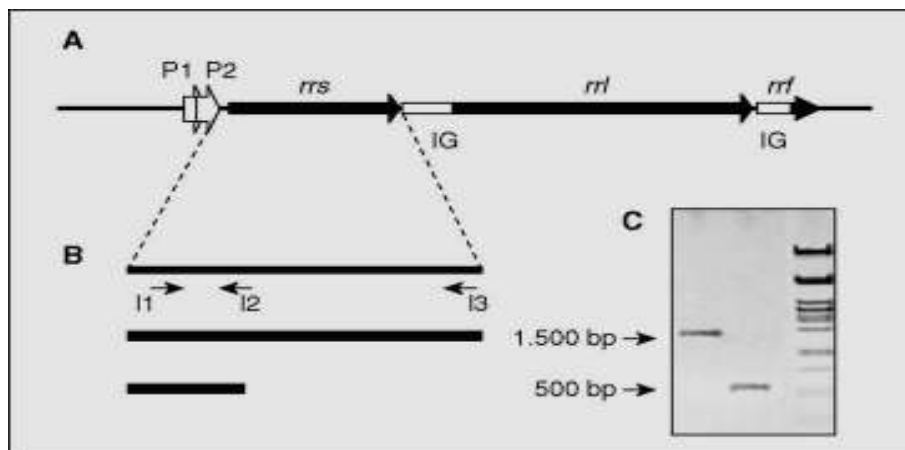
El ribosoma bacteriano (Figura 4) tiene un coeficiente de sedimentación de 70S (unidades Svedberg), y puede disociarse en dos subunidades, la grande (50S) y la pequeña (30S). Cada subunidad es un complejo ribonucleoproteico constituido por proteínas ribosómicas y moléculas de ARN ribosomal específicas.

Figura 4. Ribosoma bacteriano. Esquema de su estructura y componentes (Rodicio y Mendoza, 2004)



En bacterias, los genes que codifican los ARNr están organizados en operones (conjunto de genes que se transcriben a partir de la misma región promotora). Cada operón ribosómico (*rrn*) (Figura 5) incluye genes para los ARNr 23S (*rrl*), 16S (*rrs*) y 5S (*rrf*), separados por regiones espaciadoras o intergénicas (IG), y contiene además genes para uno o más ARN de transferencia (ARNt). El producto de la transcripción del operón a partir de dos promotores, P1 y P2, situados en la región anterior a *rrs*, está procesado por la enzima ARNasa III mediante cortes en sitios específicos que separan las tres clases de ARNr, el/los ARNt y las dos IG.

Figura 5. Operón ribosómico (*rrn*). A. Representación esquemática de sus genes estructurales, los promotores P1 y P2, y las regiones intergénicas (IG). B. Amplificación del gen *rrs* (ADNr 16S). Se indica la posición de los iniciadores I1 (directo), I e I 3 (reversos) utilizados para la amplificación y posterior secuenciación del gen completo (I1-I3; amplicón de 1.500pb aproximadamente) o de un fragmento menor (I1-I2; 500 pb correspondientes al extremo 5' del gen). C. Visualización de ambos fragmentos por electroforesis en gel de agarosa (Rodicio y Mendoza, 2004).



El método molecular de identificación bacteriana mediante secuenciación del 16S rADN incluye tres etapas: i) Amplificación del gen a partir de una colonia o muestra clínica directa. ii) Determinación de la secuencia de nucleótidos del amplicón. iii) Análisis de la secuencia: comparación de la secuencia con las depositadas en bases de datos, unas públicas de acceso libre a través de Internet, como: *GenBank* y NCBI (Nacional Center for Biotechnology Information. Los Alamos National Laboratory; Los Alamos, NM, USA).

Por tanto, 16S rARN es un polirribonucleótido de aproximadamente 1.500 pb codificado por el gen *rrs*, también denominado ADN ribosomal 16S (16S rADN), a partir de cuya secuencia se puede obtener información filogenética y taxonómica.

El número de copias del operón ribosómico por genoma bacteriano varía de una a 15, siendo relativamente constante a nivel de especie, género, e incluso familia. En el caso del género *Corynebacterium* el número de operones *rrn* es de cinco.

La principal base de datos de secuencias de rADN es EMBL (European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg, FRG) RDP (Ribosomal Database Project) y permite la comparación de secuencias alineadas *on line* (disponible en: <http://rdp.cme.msu.edu/html/>). RIDOM (Ribosomal Differentiation of Medical Microorganisms), se limita a secuencias de rADN exclusivamente de microorganismos patógenos (disponible en: <http://www.ridom.de>). Hay otras bases de datos privadas: MicroSeq (Applied Biosystems) y Smart Gene IDNS (Integral Database Network System). Es importante la elección de la base de datos, siendo recomendable la utilización de más de una de ellas para comparar si conducen al mismo resultado.

Finalmente, se podrá construir un árbol filogenético, que refleje de forma esquemática, el grado de parentesco genético entre las bacterias comparadas.

Para el género *Corynebacterium* el análisis de la secuencia del gen 16S rADN es una buena técnica de identificación (Roux *et al.*, 2004; Bernard, 2005). La mayoría de las especies son diferenciadas con $\geq 3\%$ de divergencia con respecto a las secuencias 16S rADN de los más próximos) (Pascual *et al.*, 1995; Ruimy *et al.*, 1995; Drancourt *et al.*, 2000; Tang *et al.*, 2000; Bossard *et al.*, 2003; Bernard, 2005). No todas son diferenciadas por este método, como ocurre entre algunas especies relacionadas (*C. hansenii*, *C. freneyi* y *C. xerosis*) (Renaud *et al.* 2007; Funke y Frodl, 2008). Se han descrito especies con divergencias $< 2\%$ (*C. afermentans*, *C. coyleae* y *C. mucifaciens*; *C. aurimucosum*, *C. minutissimum* y *C. singulare*; *C. sundsvallence* y *C. thomssenii*; *C. ulcerans* y *C. pseudotuberculosis* (Bernard, 2005); y *C. ureicelerivorans* de *C. mucifaciens* (Yassin, 2007).

Bernard *et al.*, 2002 establecieron una semejanza $> 98\%$ cuando la secuenciación del gen 16S rADN fuera de 1.300 a 1.500 pb para la validación de especies del género *Corynebacterium*. Posteriormente, Stackebrandt y Ebers, 2005 establecieron este punto en $\geq 98,7\%$ para considerar miembros de la misma especie. Es importante tener en cuenta que algunas especies presentan niveles de semejanza iguales o incluso mayores a éste, como ocurre entre *C. pseudodiphtheriticum* y *C. propinquum* que es $> 99\%$.

Sistemas comerciales de secuenciación

El equipo para secuenciación MicroSeq 500 (Applied Biosystems; Foster City, EEUU), versión simplificada de MicroSeq 16S rADN, sólo requiere de dos iniciadores para la secuenciación de ambas cadenas, reduciendo el trabajo y coste. Como parte del sistema se incluye una base de datos para determinar el género y especie. Además, el *software* permite exportar las secuencias para poder ser comparadas con otras bases de datos, e incluye herramientas para el análisis filogenético (Rodicio y Mendoza, 2004). Este sistema ha sido aplicado con éxito en la identificación de bacterias corineformes, donde la identificación fenotípica en los laboratorios de Microbiología es deficiente o requiere mucho tiempo y recursos. Tang *et al.*, 2000 analizaron 52 aislados, y encontraron que a nivel de género los resultados de la identificación por secuenciación fueron concordantes con los obtenidos por criterios fenotípicos, pero a nivel de especie fue más fiable la identificación por secuenciación en especies con mayor relevancia clínica como *C. diphtheriae* y *C. jeikeium*, y en un tiempo inferior a 24 h.

Otros métodos útiles para la identificación genotípica del género *Corynebacterium*.

Secuenciación del gen *rpoB* (Khamis *et al.*, 2004; Khamis *et al.*, 2005). Es el que codifica para la subunidad β de la RNA polimerasa (las mutaciones en este gen condicionan la aparición de resistencia de diferentes microorganismos a rifampicina). La secuencia completa de este gen es de aproximadamente 3.500 pb. El punto de corte del grado de semejanza para definir especies y subespecies del género *Corynebacterium* ha sido establecido en <96.6 y >98% respectivamente. Pero la secuenciación de un fragmento de 434 a 452 pb permite identificar acertadamente especies de *Corynebacterium* (Tabla 28). El mayor grado de semejanza de esta secuencia parcial entre dos especies ha sido de 95,9% frente a un 99,7% de la secuencia completa de 16S rADN (1.500 pb) (programa SVARAP). Sin embargo, no ha servido para diferenciar *C. xerosis* de una nueva especie recientemente descrita, *C. hansenii* (Renaud *et al.*, 2007).

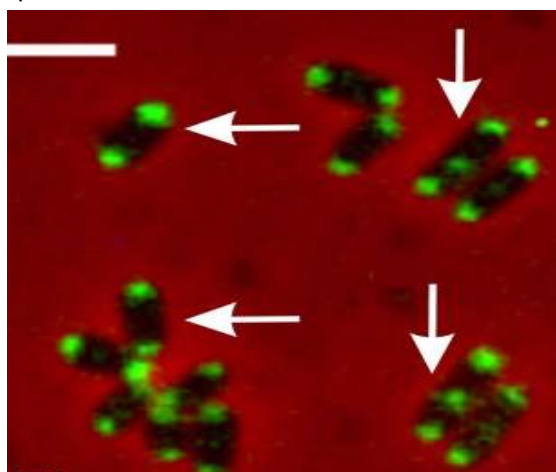
PCR ITS 16S-23S (Aubel *et al.*, 1997). La PCR del espacio intergénico 16S-23S ha sido la técnica determinante para establecer el diagnóstico diferencial de *C. freneyi* de otras especies con características fenotípicas similares y estrechamente relacionadas como *C. xerosis* y *C. amycolatum* (Freney *et al.*, 2001).

Tabla 28. Comparación de semejanzas de secuencias 16S rADN y *rpoB* como herramientas de identificación de especies o subespecies del género *Corynebacterium* (Khamis *et al.*, 2004).

Especies o subespecies comparadas: ≥98,5% de semejanza de secuencia de 16S rADN	% semejanza		
	16S rADN (1.500 pb)	Gen <i>rpoB</i>	
		Secuencia completa (3.500 pb)	Secuencia parcial (434-452 pb)
<i>C. diphtheriae</i> – <i>C. ulcerans</i>	98,5	86,0	87,9
<i>C. diphtheriae</i> – <i>C. pseudotuberculosis</i>	98,5	84,9	87,9
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> – <i>C. propinquum</i>	99,3	89,7	93,9
<i>C. aurimucosum</i> – <i>C. minutissimum</i>	98,7	94,6	93,9
<i>C. macginleyi</i> – <i>C. accolens</i>	98,7	96,6	95,9
<i>C. xerosis</i> – <i>C. freneyi</i>	98,7	96,6	95,9
<i>C. mucifaciens</i> – <i>C. afermentans</i>	98,5	94,0	92,4
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> – <i>C. afermentans</i> subsp. <i>lipophilum</i>	99,8	98,2	96,6

ARDRA (Vaneechoutte *et al.*, 1995) análisis de restricción de rADN amplificado, y el análisis de polimorfismo de fragmentos de restricción del rADN amplificado **RFLP** (Björkroth *et al.*, 1999) han sido utilizadas en la identificación genotípica de corinebacterias.

Secuenciación del gen *divIVA* (Letek *et al.*, 2006). Este gen implicado en la división celular, presenta regiones conservadas y variables en su secuencia, siendo una buena diana para la identificación molecular de corinebacterias (Figura 6). Ha permitido diferenciar *C. amycolatum* de otras especies fermentativas no lipófilas estrechamente relacionadas como *C. striatum*, *C. minutissimum* y *C. xerosis*.

Figura 6. Gen *divIVA*: Implicación en la división celular.

Hibridación ADN-ADN. Técnica que se basa en la complementariedad del ARN con el ADN genómico. Se utiliza para detectar mutaciones, pero sobre todo, para identificar microorganismos. La comparación de genomas completos es lo que aporta una identificación exacta. En su ausencia, la especie bacteriana se define, en taxonomía, como el conjunto de cepas que comparten una similitud del 70% o más en experimentos de reasociación ADN-ADN. Cepas con este nivel de relación presentan un nivel de identidad $\geq 97\%$ entre sus genes 16S rADN (Stackebrandt y Goebel, 1994). Sin embargo existen cepas que comparten una similitud inferior al 50% en la hibridación ADN-ADN pero presentan una identidad del 99-100% a nivel de 16S rADN. Por otro lado existen especies, como *C. hansenii*, que comparten ciertos rasgos fenotípicos pero no han sido diferenciadas mediante secuenciación de 16S rADN, *rpoB* ni PCR del ITS 16S-23S, siendo la hibridación ADN-ADN la técnica definitiva para su identificación (Renaud *et al.*, 2007). Es una técnica realizada en laboratorios de referencia, y en ocasiones, la única que nos permite la identificación definitiva de una nueva especie o grupos de homología distintos dentro de una misma especie como *C. jeikeium*, grupos A, B, C y D, con rasgos fenotípicos diferentes (Riegel *et al.*, 1994).

Secuenciación completa del genoma. Se ha secuenciado el genoma completo de cinco corinebacterias en los últimos seis años: *C. diphtheriae* (Cerdeño-Tárrega *et al.*, 2003), *C. jeikeium* (Tauch *et al.*, 2005), *C. urealyticum* (Tauch *et al.*, 2008), *C. kroppenstedtii* (Tauch *et al.*, 2008) y *C. aurimucosum* (Tauch 2008, comunicación personal). El conocimiento del genoma de estas bacterias explica aspectos relacionados con su patogenicidad, virulencia, ecología y resistencia antimicrobiana (Soriano y Tauch, 2008).

1.5 SENSIBILIDAD DE LOS ORGANISMOS DEL GÉNERO *Corynebacterium* A LOS ANTIMICROBIANOS

La ausencia de guías específicas para la realización de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana para bacilos Grampositivos en general, y para corinebacterias en particular, han sido los antecedentes hasta la aparición en el año 2006 del documento M45-P (propuesto) y el M45-A (aceptado) en 2007 en CLSI (CLSI, 2007).

No habían sido establecidos ni el método (microdilución en caldo, dilución en agar, E test o difusión disco placa), ni el medio de cultivo ni las condiciones de incubación en cuanto a atmósfera y tiempo de incubación, ni los puntos de corte para la interpretación terapéutica.

El método de difusión disco placa en medio de agar Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre de oveja e incubación aeróbica a 35°C durante 24-48 h y suplemento de Tween 80 para especies lipófilas, y el método de microdilución en caldo (Martínez-Martínez *et al.*, 1995) han sido los más referidos en la literatura. Se han comparado técnicas de realización de antibiogramas de corinebacterias, observando buena correlación entre dilución en agar y difusión disco placa, excepto frente a penicilina (Weiss *et al.*, 1994), entre dilución en agar y E test (Zapardiel *et al.*, 1994) y entre E test, microdilución en caldo y difusión disco placa (Martínez-Martínez *et al.*, 1995).

Tampoco existían publicaciones de patrones sistemáticos de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias corineformes: puntos de corte de CMI y diámetros de halo de inhibición (Funke *et al.*, 1997). Por este motivo, los criterios de interpretación debían ser indicados de forma explícita en cada publicación (Funke y Bernard, 2003; Bernard *et al.*, 2005).

Las penicilinas en particular, han creado discrepancias. En algunas publicaciones se han aplicado los criterios de *Staphylococcus* spp. y en otros los de *Enterococcus* spp. y *Streptococcus* spp. (Weiss *et al.*, 1996), o más de uno (Janda, 1999). Se han publicado estudios de susceptibilidad antimicrobiana para algunas especies en particular, como *C. urealyticum*, *C. jeikeium*, *C. amycolatum*, *C. minutissimum*, *C. striatum* o *C. pseudodiphtheriticum* (Soriano *et al.*, 1995) así como para otras bacterias corineformes como *Brevibacterium casei*, *Dermabacter hominis*, *Turicella otitidis*, *Oerskovia*, *Microbacterium* o *Rothia* (Funke y Bernard, 2003; Funke *et al.*, 1996b; Troxler *et al.*, 2001).

No han sido publicados métodos comerciales automatizados para antibiogramas de corinebacterias.

Como resultado del incremento del interés en las corinebacterias tanto en aspectos taxonómicos, clínicos y respuesta frente a antimicrobianos, unos ya reconocidos y otras nuevas moléculas que han ido apareciendo como telitromicina (Soriano *et al.*, 1998; Sánchez-Hernández *et al.*, 2003) ertapenem (Funch *et al.*, 1999; Funch *et al.*, 2001; Goldstein *et al.*, 2001), linezolid (Funke y Nietznik, 2005; Gómez-Garcés *et al.*, 2007), quinupristina en combinación con dalfopristina (Soriano *et al.*, 1995; Steel *et al.*, 1997; Funke y Troxler, 2005), daptomicina (Goldstein *et al.*, 2003; Shah y Murillo, 2005) o tigeciclina (Salas *et al.*, 2008), se ha ido incidiendo progresivamente en la necesidad de establecer una guía para las pruebas de susceptibilidad y resaltar la importancia de su implicación clínica (Jorgensen, 2004).

Se han descrito resistencias en bacterias corineformes como la resistencia natural de *Microbacterium resistans* (Funke *et al.*, 1998) o la sensibilidad disminuida de *Leifsonia aquatica* a vancomicina, (Soriano *et al.*, 1998; Jorgenssen y Hindler, 2007; Funke y Bernard, 2007), resistencia a fluorquinolonas y aminoglucósidos en *Arthrobacter* y *Arcanobacterium*, disminución de la sensibilidad a betalactámicos en *Brevibacterium*, o resistencia a macrólidos y clindamicina en *T. otitidis* (Funke *et al.*, 1996b).

En el género *Corynebacterium*, se han descrito dos hechos destacables: i) Resistencia a macrólidos en gran número de especies, como *C. striatum*, *C. pseudodiphtheriticum* y *C. jeikeium*, por poseer genes *erm* (Rosato *et al.*, 2001), en *C. coyleae* (Fernández-Natal *et al.*, 2008) y otras especies como *C. urealyticum*, *C. amycolatum*, *C. aurimucosum* o *C. afermentans* subsp. *afermentans* (Fernández-Roblas *et al.*, 2006; Tauch *et al.*, 2008) también con predominio de genes *erm*, con lo que la eritromicina, tratamiento que fue de elección en las infecciones causadas por estas bacterias, ha dejado de serlo, y en la actualidad, no se podrán usar si no están indicados en un informe de sensibilidad. ii) La multirresistencia, entendida como la resistencia a tres o más grupos de antimicrobianos no relacionados y utilizados habitualmente en el tratamiento de las infecciones que las ocasionan, en algunas especies. Ha sido referido en la literatura el carácter de multirresistencia incluyendo betalactámicos, macrólidos aminoglucósidos, grupo MLS_B y fluorquinolonas (Funke y Bernard, 2007) donde en ocasiones los glicopéptidos han sido la única opción terapéutica. Este carácter de multirresistencia podría

ser considerado un rasgo fenotípico más a tener en cuenta en la identificación de *C. amycolatum*, una de las especies más frecuentemente aisladas de muestras clínicas (Riegel *et al.*, 1996; Wauters *et al.*, 1998; Esteban *et al.*, 1999), *C. urealyticum* (Soriano *et al.*, 1995; Janda, 1999; Soriano *et al.*, 1998; Esteban *et al.*, 1999; Fernández-Natal *et al.*, 2001) explicado este comportamiento con la secuenciación de su genoma (Tauch *et al.*, 2008; Soriano y Tauch, 2008). Es posible, no obstante, aislar con escasa frecuencia cepas sensibles a penicilina y aminoglucósidos (Funke *et al.*, 1997e; Zapardiel *et al.*, 1997), y en especies descritas recientemente como *C. resistens* (Otsuka *et al.*, 2005) así como en algunas cepas de *C. striatum* (Otsuka y *et al.*, 2006) y de *C. jeikeium*. En esta última especie, estudios de hibridación ADN-ADN han puesto de manifiesto la existencia de cuatro grupos de homología ADN (A, B, C y D) de los cuales, los genotipos A y B se han asociado a multirresistencia (Riegel *et al.*, 1994).

Recientemente se ha publicado una guía de consenso de laboratorio para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias fastidiosas o infrecuentemente aisladas, y no recogidas en publicaciones previas del CLSI. Dentro de estos microorganismos se encuentran las bacterias corineformes (Jorgensen y Hindler, 2007; CLSI, 2007).

Esta nueva guía para *Corynebacterium* spp. y *Listeria monocytogenes* viene recogida en el documento M45-A (aprobado) en 2007, diferenciándolo del previo M45-P (propuesto) en 2006. Este documento está basado en datos publicados en la literatura, en distribuciones de CMI y mecanismos de resistencia, con limitaciones como soporte en las decisiones clínicas, a diferencia del documento M100 que es un estándar, basado en datos clínicos y datos “*in vitro*”.

Para realizar las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en corinebacterias se han establecido las siguientes condiciones: i) Técnica: microdilución en caldo Muller-Hinton con ajuste de cationes (CAMHB) y 2,5%-5% de sangre lisada de caballo para la determinación de la CMI. No se recomienda la técnica de difusión disco placa. ii) Inóculo: suspensión directa de la colonia equivalente a 0,5 McFarland, incubación a 35°C en aerobiosis durante 24-48 h. iii) Para el control de calidad: cepa ATCC 49619 de *Streptococcus pneumoniae*.

En cuanto a su aplicación, los autores indican que sólo se realizarán estas pruebas por laboratorios con experiencia en el procedimiento recomendado y cuando los microorganismos incluidos en M45-A sean aislados de muestras clínicas estériles en condiciones normales (sangre, LCR, hueso, prótesis, catéteres u otro cuerpo extraño, etc.), sean causa de

infecciones graves, infección persistente, fallo clínico, alergia o intolerancia al antibiótico de elección o posible resistencia al antibiótico prescrito. En estos casos, pueden ser necesarias alternativas terapéuticas como linezolida, daptomicina o tigeciclina. Esta última, no incluida en el documento M45-P, ha demostrado tener buena actividad frente a corinebacterias y *L. monocytogenes* (Salas *et al.*, 2008).

Los 18 antimicrobianos incluidos en el documento M45-A son: penicilina, cefepima, cefotaxima, ceftriaxona, imipenem, meropenem, vancomicina, daptomicina, gentamicina, eritromicina, ciprofloxacino, doxiciclina, tetraciclina, clindamicina, trimetropin-sulfametoxazol, rifampicina, quinupristina/dalfopristina y linezolida.

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2.1 JUSTIFICACIÓN

Las bacterias corineformes en general, y el género *Corynebacterium* en particular, han sido considerados como saprofitos de piel y mucosas, contaminantes de muestras clínicas, identificados de manera deficiente o errónea, y de patogenicidad incierta.

Los avances en las técnicas diagnósticas aplicadas a la caracterización de los microorganismos del género *Corynebacterium* han consistido en nuevas aplicaciones de los ya conocidos métodos convencionales, aparición de sistemas de identificación fenotípica comerciales automáticos o semiautomáticos que han facilitado su uso en los laboratorios asistenciales, técnicas quimiotaxonómicas de aplicación en laboratorios de referencia, y fundamentalmente, la aplicación de técnicas genéticas moleculares como métodos taxonómicos que han dado lugar a seis reclasificaciones de las bacterias corineformes en la última década. Estas técnicas permiten la inclusión o exclusión de un microorganismo en este género, descripción de nuevas especies, y además, la posibilidad de su implementación progresiva en los laboratorios asistenciales. El escalón siguiente a la correcta asignación de género y especies como aplicación de estas técnicas genéticas moleculares está siendo la descripción de genomas completos que expliquen su comportamiento: *C. diphtheriae* (2003), *C. jeikeium* (2005), *C. urealyticum*, *C. kroppenstedtii* y *C. aurimucosum* (2008).

En cuanto al interés en la significación clínica y sensibilidad antimicrobiana de los microorganismos del género *Corynebacterium*, consideradas como patógenos emergentes algunas especies y desconocida en otras, han de tenerse en cuenta circunstancias, relacionadas entre sí, que favorecen las condiciones de invasión y proliferación microbiana, y que se derivan de aspectos demográficos, sociales actuales, con repercusión en la atención sanitaria: i) un número creciente de pacientes inmunocomprometidos son atendidos en los hospitales, desde el gran prematuro en las Unidades de Neonatología a una población cada vez más envejecida con patologías crónicas, degenerativas u oncológicas; ii) práctica médica instrumentalizada, con aplicación habitual de técnicas diagnósticas y terapéuticas cruentas (cirugía, cateterismo, laparoscopia, radioterapia, inmunosupresión química, etc.); iii) estancias hospitalarias prolongadas o frecuentes de estos pacientes inmunocomprometidos; iv) consumo de antibióticos, tanto a nivel comunitario como hospitalario, como factor determinante de la

aparición de resistencias, siendo necesaria la realización e interpretación correcta del antibiograma para instaurar un tratamiento correcto.

Tan importante es el conseguir una identificación correcta de estos microorganismos, como crear una dinámica de trabajo que suponga la implicación del microbiólogo en la clínica: desde las indicaciones en la obtención de la muestra adecuada, el procesamiento en el laboratorio (aislamiento, identificación y antibiograma), a la valoración clínica del aislado en el contexto del cuadro clínico que presente el paciente, la orientación terapéutica del mismo y el seguimiento de su evolución.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo general

Identificación, estudio de sensibilidad a antimicrobianos y significado clínico de microorganismos del género *Corynebacterium* aislados de muestras clínicas humanas.

2.2.2 Objetivos específicos

Como consecuencia de la escasez de información en relación al objetivo general, se han planteado los siguientes objetivos específicos:

1. Comparar las técnicas de identificación fenotípica y genotípica para adecuar un sistema de identificación accesible a la mayoría de los laboratorios de Microbiología Clínica.
2. Conocer la sensibilidad a antimicrobianos de los microorganismos del género *Corynebacterium* para poder instaurar terapia empírica o definitiva, cuando su aislamiento tenga significación clínica.
3. Conocer el significado clínico del aislamiento de estos microorganismos.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñó un estudio observacional descriptivo donde se incluyeron todos los corineformes aislados de muestras clínicas inoculadas en botellas de hemocultivo y de cultivos de catéteres vasculares en el Servicio de Microbiología Clínica procedentes de pacientes ingresados en el Complejo Asistencial de León, perteneciente al Servicio de Salud de Castilla y León (SACYL). Dicho Complejo tiene una capacidad de 1.050 camas y atiende al Área de Salud de León, con una población de 332.739 habitantes. El periodo de estudio fue de 5 años, desde el 1 de enero del año 2000 hasta el 31 de diciembre de 2004, procesándose 216.240 muestras para cultivo bacteriano y realizando un total de 403.634 determinaciones correspondientes a 65.170 pacientes. El 21,9% de esta carga de trabajo se desarrolló en el área de hemocultivos y catéteres vasculares.

3.1 MUESTRAS

Se estudiaron un total de 47.360 muestras de las cuales 11.599 (24,5%) fueron positivas para cualquier microorganismo, detectándose corineformes en 431 (0,9%) de ellas (Tabla 29). Este trabajo se centrará, por tanto, en los organismos aislados de dichas muestras con especial referencia a aquellas en las que el estudio microbiológico estableció la identidad de una especie del género *Corynebacterium*.

Tabla 29. Tipo y número de muestras procesadas, con cultivo positivo, y con aislamiento de corineformes en el periodo de estudio (cinco años).

Tipo de muestra	Muestras procesadas	Muestras con cultivo positivo	Muestras positivas con corineforme (% de muestras procesadas)	Porcentaje de corineformes del total de muestras con cultivo positivo
Sangre	42.407	9.965 (23,5%)	350 (0,8%)	3,5
Adulto	39.565	9.497 (24,0%)	301 (0,8%)	3,2
Pediátrico	2.842	468 (16,5%)	49 (1,7%)	10,5
Otras muestras no sanguíneas	1.055	239 (22,6%)	33 (3,1%)	13,8
Catéter vascular	3.898	1.395 (35,8%)	48 (1,2%)	3,4
TOTAL	47.360	11.599 (24,5%)	431 (0,9%)	3,7

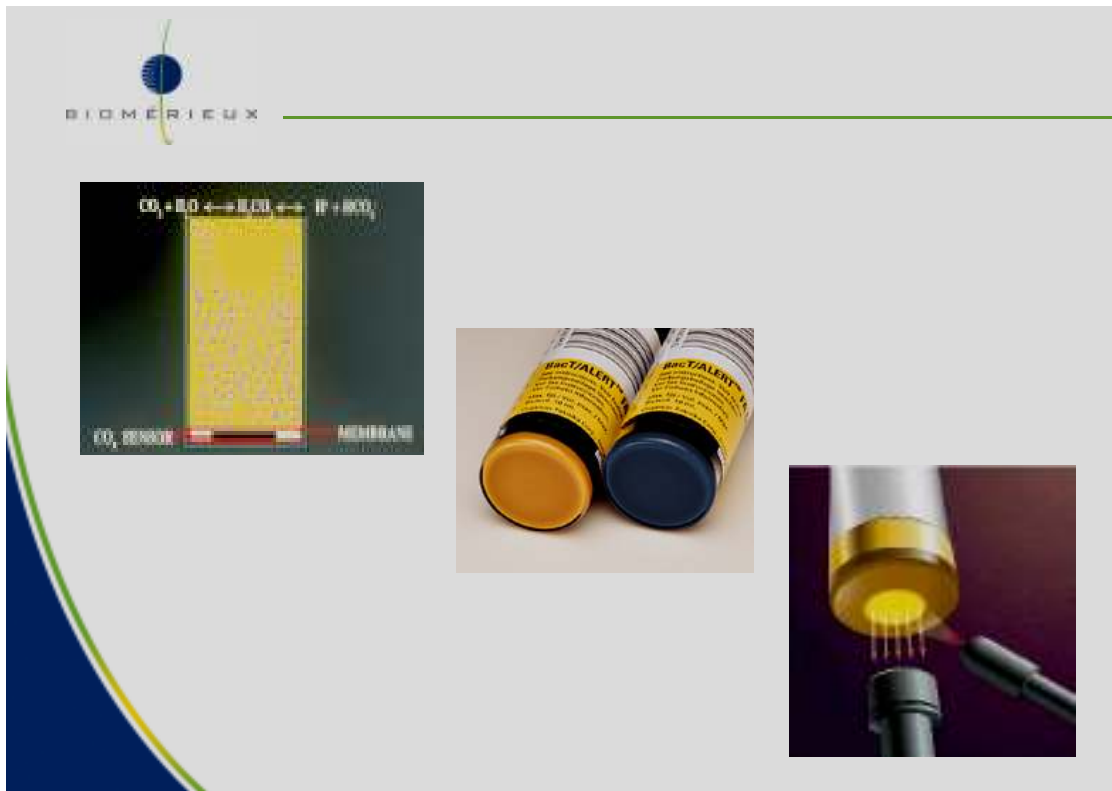
3.1.1 Botellas de hemocultivo

Se procesaron un total de 42.407 muestras de sangre. Cada muestra se inoculó en una botella de hemocultivo aeróbica y en otra anaeróbica, a excepción de las pediátricas, que fue única y aeróbica. Resultaron positivas 9.965 (23,5%) detectándose la presencia de corineformes en 350 (0,8%) de ellos. Igualmente se procesaron 1.055 muestras, diferentes a sangre, en botellas de hemocultivo, obteniéndose positividad en 239 (22,6%) y detectándose corineformes en 33 (3,1%) (Tabla 29).

Procesamiento de las muestras: La sangre fue extraída por punción venosa (5-10 mL en adultos y 0,5-5 mL en niños), los lavados de orificio de salida de catéter peritoneal (OSCDP) se realizaron con 0,5 mL de solución salina estéril que se inoculó en una botella pediátrica (Twardowski *et al.*, 1996) y las muestras restantes se inocularon directamente, una vez obtenidas en condiciones de asepsia, en botella/s de hemocultivo/s. El sistema de hemocultivo utilizado fue BacT/AlertTM (bioMérieux. Francia) siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Fundamento de la detección de positividad: Este sistema se basa en una técnica colorimétrica. La química del crecimiento consiste en que los microorganismos, al crecer en el medio de cultivo de la botella, producen CO₂, el cual reduce el pH: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow (\text{H}^+) + (\text{HCO}_3^-)$. El sensor de la botella consta de una lámina de silicona impregnada de colorante sensible a los cambios producidos por el CO₂ disuelto. Su cambio de color oscuro a amarillo indica positividad. Las lecturas se hacen por monitorización continua cada 10 minutos. El emisor de luz (LED) ilumina el sensor y el fotodiodo recoge la luz reflejada (Figura 7). La señal se transmite al ordenador y las unidades de reflectancia se representan con respecto al tiempo de incubación, en una curva de crecimiento (Figuras 8-10).

Figura 7. Fundamento de la detección de positividad de crecimiento microbiano en el sistema automático de hemocultivos BacT/Alert™ (bioMérieux. Francia).



Curvas de crecimiento: En la detección de la positividad de una botella se pueden obtener tres tipos de curva de crecimiento. (a) Tasa o *ratio*, curva de marcada pendiente que se observa en caso de microorganismos de crecimiento muy rápido, con una gran producción de CO₂ en un tiempo muy corto (Figura 8). (b) Aceleración: la curva permanece horizontalizada durante más tiempo. Esto ocurre en el caso de los microorganismos de crecimiento más lento (Figura 9). (c) Valor inicial: cuando la botella preincubada en una estufa se introduce en el sistema automático, la botella ya tiene el sensor cambiado de color y con un número elevado de unidades de reflectancia (con frecuencia, superior a 3.000), y se detecta desde el principio como positiva (Figura 10).

Figura 8. Detección de positividad mediante curva de crecimiento tipo tasa o ratio en el sistema automático de hemocultivos BacT/AlertTM (bioMérieux. Francia).

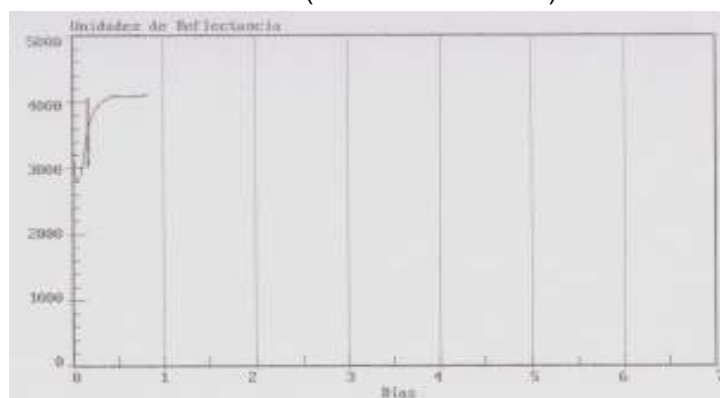


Figura 9. Detección de positividad mediante curva de crecimiento tipo aceleración en el sistema automático de hemocultivos BacT/AlertTM (bioMérieux. Francia).

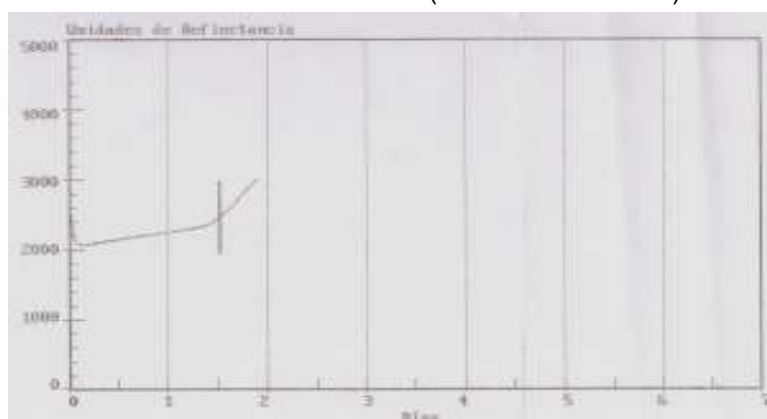
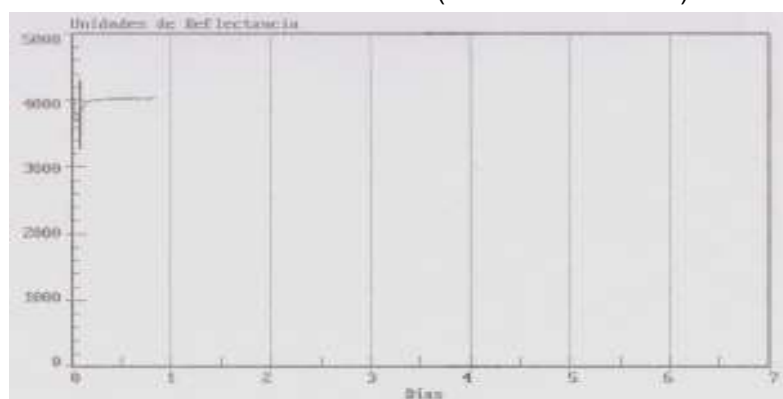


Figura 10. Detección de positividad mediante curva de crecimiento tipo valor inicial en el sistema automático de hemocultivos BacT/AlertTM (bioMérieux. Francia).



3.1.2 Catéteres vasculares

Tipo de muestras: Se recibieron 3.898 catéteres vasculares para estudio microbiológico considerándose positivos 1.395 (35,8%) y presencia de corineformes en 48 (1,2%) de ellos (Tabla 29).

Procesamiento de las muestras: El estudio microbiológico de la punta de los catéteres vasculares se realizó según técnica previamente descrita (Maki *et al.*, 1977). El cultivo semicuantitativo según técnica descrita por Maki *et al.*, 1977, permite conocer la colonización de la superficie externa del catéter. Consiste en rodar 3-4 veces sobre la superficie de una placa de agar sangre, con la ayuda de unas pinzas estériles, el segmento distal intravascular del catéter de 3-4 cm de longitud. Cuando en el medio crecen ≥ 15 UFC, se considera que el catéter está colonizado. Esta técnica utilizada aisladamente tiene una alta sensibilidad, pero una especificidad del 76%, escaso VPP (15-30%) de bacteriemias relacionadas con catéteres y alrededor de un 15% de bacteriemias de origen endoluminal no podrían ser diagnosticadas.

3.2 CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA

Se han utilizado métodos convencionales y dos sistemas comerciales.

3.2.1 Métodos convencionales

Características de cultivo: tamaño, color, bordes, consistencia, aspecto, hemólisis o no de las colonias. Medio de cultivo (agar sangre, manitol, chocolate, *Brucella*), atmósfera (aerobiosis, 5% de CO₂ y anaerobiosis) y tiempo de incubación necesarios para su aislamiento. Tinción de Gram. Reacción de la catalasa (H₂ O₂ al 3%). Movilidad. Metabolismo fermentativo u oxidativo (Funke y Bernard, 2007).

Pruebas complementarias: (1) Lipofilia: se determinó comparando el crecimiento después de 72 h a 37° C en caldo infusión corazón cerebro y el mismo medio al que se añade Tween 80 al 1% (vol./vol.) (Becton Dickinson). (Riegel *et al.*, 1994), (2) susceptibilidad al factor vibriostático O/129 (2,4-diamino-6,7-diisopropilpteridina), disco con 150 µg (Oxoid, Basingstoke,

Reino Unido) en Muller Hinton agar con 5% de sangre, de una suspensión bacteriana de 0,5 McFarland durante 24 horas a 37°C, considerándose resistente cuando el halo de inhibición es ≤ 11 mm de diámetro (Renaud *et al.*, 1998), (3) producción de DNAsa (medio preparado en placa, Metrix, España), (4) hidrólisis de la tirosina, (5) prueba de Christie-Atkins-Munch-Peterson (CAMP) con cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Hollis *et al.*, 1981), (6) fermentación de glucosa a 42°C, (7) cultivo en agar sangre a 20°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) a las 72 h de incubación (Wauters *et al.*, 1998), (8) asimilación de: maltosa, N-acetil-glucosamina (NAG) y fenilacetato (PAC) mediante el sistema API NETM (bioMérieux, Francia). Este sistema está comercializado para la identificación de bacilos Gramnegativos, aunque se utilizó para identificación de corineformes, aplicando el protocolo modificado por Renaud *et al.*, 1998. Se parte de 10 gotas de una suspensión bacteriana de turbidez equivalente a 6,0 de la escala de McFarland, que se transfirieron al medio AUX provisto en el sistema y esta suspensión final se utilizó para inocular los pocillos del auxonograma. Se incubó a 30°C y las lecturas se realizaron a las 48 y 96 h.

3.2.2 Identificación con medios comerciales

Sistema API CoryneTM V2.0 (bioMérieux, Francia). Siguiendo instrucciones de procedimiento y lectura del fabricante se obtiene el perfil e identificación/es con la lectura de 20 pruebas. A las 24 h se realiza la lectura de 11 pruebas enzimáticas: reducción de nitratos a nitritos (NIT), pirazinamidasa (PYZ), pirrolidonil arilamidasa (PyrA), fosfatasa alcalina (PAL), β -glucuronidasa (β GUR), β -galactosidasa (β GAL), α -glucosidasa (α GLU), N-acetil- β -glucosaminidasa (β NAG), esculina (ESC), ureasa (URE), hidrólisis de la gelatina (GEL), además de un control negativo. A las 48 h se evalúa la producción de ácido a partir de ocho hidratos de carbono (fermentación): glucosa (GLU), ribosa (RIB), xilosa (XYL), manitol (MAN), maltosa (MAL), lactosa (LAC), sacarosa (SAC) y glicógeno (GLYG). Se precisa añadir el resultado de la catalasa (Funke *et al.*, 1997f). Según su base de datos, se pueden identificar 16 especies individualizadas y en 4 ocasiones la identificación es bivalente: *C. auris*/*T. otitidis*, *C. striatum*/*amycolatum*, *C. afermentans*/*coyleae*, *C. diphtheriae* biotipo *mitis*/*belfanti* (Tabla 25).

Sistema BiologTM GP2 (Biolog, EEUU). Las microplacas Biolog GP2 contienen 95 sustratos de fuentes de carbono permitiendo detectar la capacidad de las bacterias

grampositivas de utilizar/oxidar estas fuentes de carbono, unidas a sales de tetrazolio que actúan como indicador de la reacción, y que en caso de positividad se manifiesta con un color púrpura intenso del pocillo. Los pocillos negativos permanecen incoloros como el pocillo A1 (control negativo, sin fuente de carbono). (Lindenmann *et al.*, 1995). La composición de los 95 substratos como fuentes de carbono es la siguiente:

A 1:	agua-control	D 1:	β -metil-glucósido	G 1:	L-analinamida
A 2:	α -ciclodextrina	D 2:	α -metil-D-manósido	G 2:	D-alanina
A 3:	ciclodextrina	D 3:	Palatinosa	G 3:	L-alanina
A 4:	Dextrina	D 4:	D-Psicososa	G 4:	L-anlaniglicina
A 5:	Glucógeno	D 5:	D-rafinosa	G 5:	L-asparragina
A 6:	Inulina	D 6:	L-rahmnosa	G 6:	L-ácido glutámico
A 7:	Manano	D 7:	D-ribosa	G 7:	Glicil-L-acido glutámico
A 8:	Tween 40	D 8:	Salicina	G 8:	L-ácido piroglutámico
A 9:	Tween 80	D 9:	Sedoheptulosano	G 9:	L-serina
A10:	N-acetil-D-glucosamina	D10:	D-sorbitol	G10:	Putrescina
A11:	N-acetil-D-manosamina	D11:	Stachiosa	G11:	2,3 Butanodiol
A12:	Amigdalina	D12:	Sacarosa	G12:	Glicerol
B 1:	L-arabinosa	E 1:	D-tagatosa	H 1:	Adenosina
B 2:	D-arabitol	E 2:	D-trealosa	H 2:	2-deoxi-adenosina
B 3:	Arbutina	E 3:	Turanosa	H 3:	Inosina
B 4:	D-celobiosa	E 4:	Xilitol	H 4:	Timidina
B 5:	D-fructosa	E 5:	Xilosa	H 5:	Uridina
B 6:	L-fucosa	E 6:	Ácido acético	H 6:	Adenonin-monofosfato
B 7:	D-galactosa	E 7:	α -ácido hidroxibutírico	H 7:	Timidin-monofosfato
B 8:	D-ácido galacturónico	E 8:	β -ácido hidroxibutírico	H 8:	Uridín-monofosfato
B 9:	Gentiobiosa	E 9:	γ -ácido hidroxibutírico	H 9:	D-fructosa-1-fosfato
B10:	Acido glucónico	E10:	<i>p</i> -ácido hidroxifenilacético	H10:	α -D-glucosafosfato
B11:	α -D-glucosa	E11:	α -ácido cetoglutámico	H11:	D-glucosa-6-fosfato
B12:	<i>m</i> -inositol	E12:	α -ácido cetovalérico	H12:	DL- α -glicerol fosfato
C 1:	D-lactosa	F 1:	Lactamida		
C 2:	Lactulosa	F 2:	D- ácido láctico (metil-ester)		
C 3:	Maltosa	F 3:	L- ácido láctico		
C 4:	Maltotriosa	F 4:	D- ácido málico		
C 5:	D-manitol	F 5:	L- ácido málico		
C 6:	D-manosa	F 6:	Ácido pirúvico (metil-ester)		
C 7:	D-melezitosa	F 7:	Ácido succínico (metil-ester)		
C 8:	D-melobiosa	F 8:	Ácido propiónico		
C 9:	α -metil-D-galatósido	F 9:	Ácido pirúvico		
C10:	β -metil-D-galactósido	F10:	Ácido succinámico		
C11:	3-metil-D-glucosa	F11:	Ácido succínico		
C12:	α -metil-glucósido	F12:	N-acetil-L-ácido glutámico.		

La aplicación de este sistema comercial ha sido realizada por el Dr. J.A. Sáez Nieto y la Dra. S. Valdezate Ramos en el Laboratorio de Taxonomía Bacteriana, Servicio de Bacteriología del Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III (Madrid).

3.3 CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA. ANÁLISIS DE LA SECUENCIA DE LA FRACCIÓN DE 16S DEL ADN RIBOSÓMICO (16S rADN) Y DEL GEN *rpoB*

Se siguió el protocolo desarrollado en el Laboratorio de Taxonomía Bacteriana, Servicio de Bacteriología del Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III (Madrid), por el Dr. J.A. Sáez Nieto y la Dra. S. Valdezate Ramos. Se resuspendió en 1 mL de agua destilada estéril un asa en copete del cultivo de 24 h en agar sangre. Tras 10 min de ebullición y 10 min de centrifugación a 12.000 rpm, se utilizó el sobrenadante como extracto de ADN. Amplificación: un fragmento de ~1.400 pb de 16S rADN mediante *puReTaq*TM *Ready-To-Go PCR Beads* (Amersham Biosciences. Reino Unido), iniciadores SEQ1 (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) y RP (ACGGCTACCTTGTTACGACTT) en las siguientes condiciones: 94°C 5 min; 35 ciclos: 94°C 15 seg; 55°C 15 seg; 72°C 1 min 50 seg; 72°C 5 min. Purificación: productos de PCR mediante GFX™ PCR ADN y *Gel Band Purification Kit* (Amersham Biosciences. Reino Unido). Secuenciación: sistema *Abi Prism Big Dye Terminator Kit* en el secuenciador ABI Prism 377 e iniciadores de amplificación, condiciones: 94°C 3 min; 25 ciclos: 96°C 10 seg; 55°C 4 min 5 seg (Drancourt *et al.*, 2000). Las secuencias obtenidas fueron comparadas con las existentes en las bases de datos GenBank, EMBL y DDBJ, usando el programa Edit-Seq NCBI-Blast. Los criterios de identificación de especie fueron definidos con una semejanza ≥98% (1.300-1.500 pb) (Bernard *et al.*, 2002).

Como método alternativo, en las cepas que no pudieron ser identificadas molecularmente con el fragmento 16S rADN, se realizó la secuenciación de una fracción hipervariable del gen *rpoB* de *Corynebacterium* de entre 50 y 100 pb. La extracción del ADN se realizó de forma similar a la del apartado anterior y las secuencias obtenidas se compararon en las bases de datos mencionadas. Las particularidades del método, iniciadores y condiciones de la PCR para la secuenciación fueron las descritas previamente por Khamis *et al.*, 2004.

3.4 ESTUDIO DE SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS

3.4.1 Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias y estudio de sensibilidad por técnica de difusión con disco

Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante tiras de E test™ (AB Biodisk. Solna. Suecia) y de difusión disco-placa (Metrix, España) en medio de Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre en aerobiosis a 37°C durante 24-48 h, con una suspensión bacteriana de turbidez equivalente a 0,5 de la escala de McFarland, de 23 antibióticos. Se determinó la CMI mediante tiras de E test a 17 antibióticos: penicilina, ampicilina, imipenem, ertapenem, vancomicina, ciprofloxacino, moxifloxacino, tetraciclina, cloranfenicol, gentamicina, rifampicina, linezolid, eritromicina, claritromicina, azitromicina, clindamicina, quinupristina en combinación con dalfopristina. Se aplicó el método de disco-placa, en las condiciones anteriores, en el estudio de seis antibióticos: ácido fusídico (10 µg), espiramicina (100 µg), fosfomicina (200 µg), novobiocina (30 µg), pristamicina (15 µg) y telitromicina (15 µg). Se incluyeron como cepas control: *S. aureus* ATCC 29213 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

En la interpretación terapéutica se aplicaron los puntos de corte establecidos para *Corynebacterium* spp. en el documento M45-A del CLSI 2007 a los siguientes 11 antibióticos: penicilina, imipenem, vancomicina, ciprofloxacino, tetraciclina, gentamicina, rifampicina, linezolid, eritromicina, clindamicina y quinupristina en combinación con dalfopristina. Para los no incluidos en este documento, se aplicaron los siguientes puntos de corte: ≤8 µg/mL para ampicilina y cloranfenicol, (CLSI 2007 para *Enterococcus* spp.), ≤2 µg/mL para ertapenem (CLSI 2007 para *Staphylococcus* spp.), y ≤0,5 µg/mL para azitromicina, claritromicina (Soriano *et al.*, 1998) y moxifloxacino (CLSI 2007 para *Staphylococcus* spp.) (Tabla 30).

Se consideró resistencia de bajo nivel a la sensibilidad intermedia establecida por los documentos o publicaciones referidos que han sido utilizados para la interpretación terapéutica.

Tabla 30. Criterios interpretativos de la concentración mínima inhibitoria (CMI) por método E test para 17 antibióticos en *Corynebacterium* spp.

Antimicrobiano y criterio interpretativo aplicado	CMI (µg/mL)		
	S ^a	I ^b	R ^c
CLSI 2007, documento M45-A para <i>Corynebacterium</i> spp.			
Ciprofloxacino	≤1	2	≥4
Clindamicina	≤0,5	1-2	≥4
Eritromicina	≤0,5	1	≥2
Gentamicina	≤4	8	≥16
Imipenem	≤4	8	≥16
Linezolida	≤2	-	-
Penicilina	≤1	2	≥4
Quinupristina/Dalfopristina	≤1	2	≥4
Rifampicina	≤1	2	≥4
Tetraciclina	≤4	8	≥16
Vancomicina	≤4	-	-
Soriano et al., 1998 para corineformes			
Azitromicina	≤0,5	-	≥8
Claritromicina	≤0,5	-	≥8
CLSI, 2007 para <i>Enterococcus</i> spp.			
Ampicilina	≤8	-	≥16
Cloranfenicol	≤8	-	≥32
CLSI, 2007 para <i>Staphylococcus</i> spp.			
Ertapenem	≤2	-	≥8
Moxifloxacino	≤0,5	-	≥2

^a S: Sensibilidad. ^b I: Resistencia intermedia o de bajo nivel. ^c R: Resistencia de alto nivel

En la interpretación terapéutica de los antibióticos estudiados por método de difusión disco placa se aplicaron los puntos de corte del CLSI 2007 para *Enterococcus* spp. en fosfomicina, de CLSI 2007 para *Staphylococcus* spp. en telitromicina, y los del Comité del Antibiógrama de la Sociedad Francesa de Microbiología (CA-SFM, 2005) en ácido fusídico, espiromicina y pristamicina (Tabla 31).

Al no existir criterios de sensibilidad a novobiocina (disco de 30 µg) los resultados se expresan atendiendo al tamaño del halo de inhibición.

Tabla 31. Criterios interpretativos por método de difusión disco-placa para cinco antibióticos en *Corynebacterium* spp.

Antibiótico y criterio interpretativo aplicado	Carga del disco	Diámetro de Inhibición (mm)	
		S ^a	R ^b
Fosfomicina ^c	200 µg	≥16	≤12
Telitromicina ^d	15 µg	≥22	≤18
Acido fusídico ^e	10 µg	≥22	-
Espiramicina ^e	100 µg	≥24	-
Pristinamicina ^e	15 µg	≥22	-

^a S: Sensibilidad. ^b R: Resistencia de alto nivel. ^c CLSI, 2007 (*Enterococcus* spp.), ^d CLSI, 2007 (*Staphylococcus* spp.), ^e CA-SFM, 2005 (*Staphylococcus* spp.)

3.4.2 Estudio de fenotipos de resistencia a antimicrobianos del grupo

MLS_B

Para establecer el fenotipo de resistencia al grupo de antimicrobianos MLS_B (macrólidos, lincosaminas y estreptograminas grupo B) se aplicó la prueba de doble difusión en disco con eritromicina (15 µg) y clindamicina (2 µg) por el método descrito por Seppälä *et al.*, 1993 para *Streptococcus pyogenes*. Discos comerciales (Metrix, España) de ambos antibióticos se colocaron a una distancia de 15 mm, en placas de agar Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre, que se incubaron en aerobiosis a 37°C durante 24-48 h. Se utilizó como inóculo una suspensión bacteriana de turbidez equivalente a 0,5 de la escala de McFarland.

3.4.3 Estudio de genotipos de resistencia a macrólidos. Detección de genes *erm*(X), *mef*(A) y *mef*(E)

La extracción de ADN se realizó a partir de un cultivo fresco, inoculando una colonia en 200 µL de agua destilada estéril. Después de 10 min hirviendo, se centrifugó 15 min a 12.000 rpm (Microfuge 11, Beckman, EEUU). A continuación se tomaron 150 µL del sobrenadante, el cual contenía el extracto de ADN, que se conservó congelado hasta su uso.

Se aplicó el protocolo de Rosato *et al.*, 2001, la mezcla de reacción de la PCR se realizó en un volumen final de 25 µL. Se utilizaron tubos Eppendorf comerciales *puRe Taq Ready-To-Go PCR Beads* (Amersham Biosciences, Reino Unido), que contienen estabilizadores, dNTPs

(200 µM en el volumen final dado), Tris-HCl (10mM), KCl (50mM), MgCl₂ (1,5 mM) y aproximadamente 2,5 unidades de *puRe Taq* ADN polimerasa. Se añadieron 0,2 µL de cada iniciador (Pacisa-Giralt, España) (Tabla 32) y 23,35 µL de agua destilada estéril hasta completar el volumen de reacción. Finalmente, se agregaron 1,25 µL del extracto de ADN de las cepas de corinebacterias a estudiar, 1,25 µL de agua destilada estéril para el control negativo y 1,25 µL de extracto de ADN de control positivo de los genes a estudio: cepa de *C. jeikeium* con presencia del gen *erm(X)* y cepa de *Streptococcus pyogenes* 504 con presencia del gen *mef(A-E)*.

La amplificación del gen *erm(X)* por PCR se realizó en un termociclador PTC-100, Peltier Thermal Cyclr MJ Research (Bio-Rad, EE.UU.), en las siguientes condiciones: 94°C 3 min; 25 ciclos: 94°C 1 min (desnaturalización), 66°C 1 min (anillamiento); 72°C 2 min (elongación), para finalizar el proceso con la permanencia del producto de amplificación a una temperatura de 4°C hasta su posterior utilización (Rosato *et al.*, 2001). Los genes *mef(A)* y *mef(E)* fueron amplificados también por PCR con el mismo termociclador pero empleándose un protocolo diferente de amplificación, en las siguientes condiciones: 93°C 3 min; 35 ciclos : 93°C 1 min (desnaturalización); 51°C 1 min (anillamiento); 72°C 1 min (elongación) y la consiguiente conservación de la mezcla amplificada a 4°C hasta su uso (Sutcliffe *et al.*, 1996).

Tabla 32. Iniciadores utilizados para la detección de los genes de resistencia.

Gen	Iniciador	pb ^a	Secuencia de nucleótidos	Tf ^b (°C)
<i>erm(X)</i>	Cerm 1 ^c	20	5'-GAC ACG GCC GTC ACG AGC AT-3'	63,4
	Cerm 2 ^c	17	5'-GGC GGC GAG CGA CTT CC-3'	62,4
<i>mef(A)</i> y <i>mef(E)</i>	Mef A-E-1 ^d	21	5'-AGT ATC ATT ATT CAC TAG TGC-3'	52,0
	Mef A-E-2 ^d	21	5'-TTC TTC TGG TAC TAA AAG TGG-3'	54,0

^a pb: número de pares de base del iniciador. ^b Tf: temperatura de fusión recomendada por el fabricante. ^c Los iniciadores Cerm 1 y Cerm 2 delimitan una sección de 390 pb del gen. ^d Los iniciadores Mef A-E-1 y Mef A-E-2 delimitan una sección de 348 pb del gen.

La electroforesis se realizó en un gel de agarosa al 3% en TBE 1x (10x en stock de Bio-Rad, EEUU) que contiene 89 mM de Tris, 89 mM de ácido bórico, 2mM de EDTA, a un pH de 8,4. Al gel se le añadió bromuro de etidio (Bio-Rad, EEUU) para observar el producto de la PCR.

Se añadió a la muestra 5 µL del tampón de carga (para 6x: 0,25% de azul de bromofenol, 0,25% de xilencianol y sacarosa en agua en una proporción de 40% p/V) para que la relación con los 25 µL del producto fuese de 1:5. La electroforesis se realizó en una cubeta Sub-Cell GT o Wide mini-sub cell GT (Bio-Rad, EEUU) rellena de dicho tampón durante una h aproximadamente a 100 V (suministrador de voltaje Power Pac Basic o Power Pac 300 de Bio-Rad, EEUU).

Los productos de amplificación de la PCR fueron los fragmentos de los genes *erm(X)* de 390 pb y *mef(A)* y *mef(B)* de 348 pb. Fueron estimados gracias a los diferentes controles positivos y a un marcador de peso molecular en escalera conocido (20 pb *molecular ruler*, Bio-Rad, EEUU). La lectura y análisis de los geles fueron realizados en un transiluminador (EcoGen, EEUU), acoplado a un ordenador (EcoGen, National Electronics M900X, EEUU). Las fotografías fueron escaneadas y analizadas con el software PhotoCapt (BioGene, EEUU).

En las cepas positivas para el gen *erm(X)*, se realizó la secuenciación de los fragmentos amplificados. Una vez realizado el proceso de amplificación específica, según protocolo descrito previamente, se realizó el proceso de purificación empleando el sistema comercial MontageTM PCR Centrifugal Filter Devices (Millipore Corporation). De este modo, 300 µL de agua destilada o buffer se depositaron en un contenedor, previamente insertado en uno de los viales suministrados por el proveedor. A continuación se añadieron 100 µL del producto de la reacción de la PCR hasta completar un volumen total de 400 µL. Posteriormente, se procedió a centrifugar el contenido durante 15 minutos a una velocidad de 3.500 r.p.m. Se tomó el contenedor con el producto del centrifugado y se colocó sobre un vial nuevo invirtiendo su posición. Por último, se añadió 20 mL de agua o buffer TE y se centrifugó durante 2 minutos a 3.500 r.p.m., recogiendo finalmente el filtrado con el producto purificado de la PCR.

En la secuenciación se siguió el protocolo desarrollado en el Centro de Referencia de Microbiología de Majadahonda (Madrid). Se realizaron dos mezclas de reacción, una para cada iniciador, es decir, dos tubos por muestra. La mezcla de reacción de la PCR se realizó en un volumen final de 10 µL. Se emplearon los tubos Eppendorf comerciales *puRe Taq Ready-To-Go PCR Beads* (Amersham Biosciences, Reino Unido) y se añadieron, en el caso del gen *erm(X)*, 1 µL del primer Cerm1 a la mezcla que secuenció en un sentido y 1 µL del iniciador Cerm2 en la mezcla que secuenció en el sentido contrario, 2 µL de ADN purificado, 2 µL de Big

Dye Terminator y 5 µL de agua destilada. El programa de secuenciación de los genes se realizó en el mismo termociclador consistiendo en: 94°C 3 min; 25 ciclos: 96°C 10 seg; 60°C 4 min y 5 seg, para finalizar con la conservación del producto final a 4°C hasta su utilización. Las secuencias de los iniciadores utilizados se exponen en la Tabla 32.

3.5 ESTUDIO CLÍNICO

3.5.1 Definiciones. Criterios de diagnóstico microbiológico

Bacteriemia: Presencia de bacterias en sangre.

Sepsis: Infección en el torrente circulatorio producida por microorganismos o sus toxinas.

Infección Relacionada con Catéter (IRC): Los criterios aplicados son los establecidos en el año 2003 por la Conferencia de Consenso de las Infecciones por Catéter SEIMC-SEMICYUC (Garnacho, 2003, Liñares *et al.*, 2003). Incluye tres entidades: (a) Infección del punto de entrada. Clínicamente documentada si existen signos locales de infección en el punto de entrada del catéter como enrojecimiento, induración, calor y salida de material purulento. Microbiológicamente documentada si existen signos locales de infección en el punto de entrada del catéter además de un cultivo semicuantitativo positivo de la punta del catéter, pero sin bacteriemia concomitante. (b) Catéter colonizado, si cultivo positivo de la superficie externa de la punta del catéter con recuento de ≥ 15 UFC / placa de rodamiento o en la conexión, y cultivo negativo del lavado de la superficie interna de la luz, sin signos clínicos de infección en el punto de entrada, ni de sepsis. (c) Catéter infectado, si cultivo positivo tanto de la superficie externa como de la interna, o del lavado de la superficie interna y hemocultivo/s positivo/s.

Bacteriemia relacionada con catéter (BRC), la entidad de mayor trascendencia por la gravedad y posible impacto sobre el pronóstico del paciente. Se pueden diferenciar cuatro situaciones: (a) Si el catéter ha sido retirado: aislamiento del mismo microorganismo (misma identificación y susceptibilidad antibiótica) en hemocultivo (preferentemente extraído de la vena

periférica) y en un cultivo cuantitativo o semicuantitativo de punta de catéter de un paciente con cuadro clínico de sepsis, según definición de la Conferencia de Consenso de la American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Committee (ACCP/SCCM, 1992) y no otro foco aparente de infección. (b) Si el catéter es permanente: episodio de sepsis sin otro foco aparente en el que se aísla, en hemocultivos simultáneos cuantitativos, una proporción superior o igual a 5:1 en las muestras extraídas a través de catéter respecto a la obtenida por venopunción, o bien, un tiempo diferencial positivo en el hemocultivo extraído a través del catéter, al menos 2 horas antes que el resultado positivo obtenido por venopunción, aplicable al uso de sistemas automáticos de hemocultivos (Blot *et al.*, 1998). Dos hemocultivos positivos cualitativos en los que se monitorice una diferencia en el tiempo de detección de crecimiento de al menos 2 horas entre el hemocultivo obtenido a través del catéter del obtenido por venopunción. (c) Bacteriemia (o fungemia) probablemente relacionada con el catéter: en ausencia de cultivo de catéter, episodio de bacteriemia cuya sintomatología desaparece a las 48 horas de la retirada de la línea venosa y sin que exista otro foco aparente de infección. (d) Bacteriemia (o fungemia) relacionada con los líquidos de infusión: aislamiento del mismo microorganismo en el líquido de infusión y en el hemocultivo extraído percutáneamente, sin otro foco identificable del episodio. Aparece un cuadro brusco al inicio de la infusión. Es el único caso en que hay que incluir la toma de muestras para microbiología del líquido de infusión en el diagnóstico de BRC.

Bacteriemia significativa: (a) Dos o más muestras de hemocultivo positivas con aislamiento de idéntico microorganismo (misma identificación y susceptibilidad antibiótica). (b) Una muestra de hemocultivo positiva y otra muestra de otra procedencia con cultivo positivo, con aislamiento de idéntico microorganismo (misma identificación y susceptibilidad antibiótica).

3.5.2 Evaluación del significado clínico de los aislamientos.

En base a criterios previamente establecidos (Funke *et al.*, 1997), se consideraron cuatro categorías de significación clínica: (a) definitiva, (b) probable, (c) posible, y (d) indeterminada.

Para (a) significación clínica definitiva se requirió: (i) aislamiento en cultivo puro a partir de muestra normalmente estéril; (ii) aislamiento en más de una muestra clínica del paciente; (iii)

aislado con mismo fenotipo/genotipo y misma sensibilidad antimicrobiana; (iv) signos y/o síntomas compatibles con proceso infeccioso local y/o sistémico, con respuesta al tratamiento antimicrobiano acorde con la sensibilidad "*in vitro*". Para (b) significación clínica probable, el paciente presentaría todos los criterios de significación clínica definitiva excepto que el microorganismo se aísle de muestra normalmente estéril o no, y/o en cultivo mixto. Para (c) significación clínica posible, se aplicaron los anteriores criterios de significación clínica definitiva, excepto que el microorganismo se aísle de muestra clínica única. Y para (d) significación clínica indeterminada, aplicamos los criterios de posible pero sin sintomatología clínica focal o sistémica o carencia de datos.

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó con el programa Epi-Info 2007 (CDC, Atlanta). Los resultados de las variables cuantitativas se expresaron con media, desviación estándar y rango. Las variables cualitativas en frecuencia absoluta, relativa (en porcentaje y con intervalo de confianza al 95%). El ajuste de las variables a la distribución normal se realizó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y la homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene. Para variables que tenían distribución asimétrica se expresaron usando la mediana y la variación intercuartil (Pc25 y 75, mediante el método Average).

Estudio comparativo entre variables epidemiológicas y aislados de corineformes:

(a) Comparación entre variables cualitativas: (i) para datos independientes se aplicó la prueba del χ^2 , con la corrección de Yates si alguna de las frecuencias esperadas era inferior a 5, o la prueba exacta de Fisher si alguna de las frecuencias esperadas era inferior a 2; se calculó la Odds ratio (OR) con su intervalo de confianza del 95% (IC95%) por el método Cornfield. (ii) para datos pareados se aplicó el test de Mc Nemar, con corrección de Yates si la suma de las frecuencias de dos tablas era inferior a 10.

(b) Comparación entre variables cuantitativas paramétricas: (i) Para datos independientes se aplicó el test de la t de Student-Fisher para datos independientes; si hubo más de dos medias se realizó el análisis de la varianza (ANOVA) para datos independientes y si fue significativo, se empleó el test de Bonferroni (si hubo homogeneidad de las varianzas). (ii)

Para datos apareados se aplicó el test de la t de Student-Fisher para datos apareados; si hubo más de dos medias: test de ANOVA para datos apareados. En caso de variables con distribución no normal se usaron pruebas no paramétricas: U de Mann-Whitney para comparar dos muestras independientes y la T de Wilcoxon de las sumas de rangos si las muestras eran pareadas; prueba de Kruskal-Wallis para comparar más de dos muestras y prueba de Friedman de posición si las muestras eran pareadas.

(c) Análisis de pruebas diagnósticas: se comparó el resultado de la caracterización genotípica con las fenotípicas y se determinó, como se expone en la (Tabla 33): Sensibilidad (S): $a / (a+c)$, o verdadero positivo / positivos. Especificidad (E): $d / (b+d)$ o verdadero negativo / negativos. Valor predictivo positivo (VPP): $a / (a+b)$ o verdadero positivo / (verdadero positivo + falso negativo). Valor predictivo negativo (VPN): $d / (c+d)$ o verdadero negativo / (verdadero negativo + falso positivo). Precisión, valor global o porcentaje de identificación correcta de la prueba: $(a+d) / \text{total}$ o (verdadero positivo + verdadero negativo) / (total).

Tabla 33. Análisis de caracterización microbiológica.

		Caracterización fenotípica		Totales
		Positivo	Negativo	
Caracterización genotípica	Positivo	a (verdadero positivo)	b (falso negativo)	a+b
	Negativo	c (falso positivo)	d (verdadero negativo)	c+d
	Totales	a+c (positivos)	b+d (negativos)	a+b+c+d (total)

El nivel de significación establecido fue de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 MUESTRAS POSITIVAS A CORINEFORMES Y NÚMERO DE AISLADOS

Se estudiaron un total de 431 muestras clínicas humanas positivas a corineformes, 3,7% del total de muestras con cultivo positivo, procedentes de pacientes hospitalizados en un periodo de cinco años (2000 a 2004). (Tabla 29).

En la Tabla 34 se resume la distribución de muestras y aislados en los tres grupos de muestras clínicas estudiadas: sangre (hemocutivo), catéter vascular y otras muestras no sanguíneas procesadas en botella de hemocultivo, y los aislados recuperados de las mismas diferenciando los pertenecientes al género *Corynebacterium* de los corineformes no pertenecientes a éste género.

Tabla 34. Número total de muestras positivas a corineformes y número total de aislados estudiados.

Tipo de muestra	Muestras positivas a corineformes			Número de aislados estudiados		
	Total Corineformes	<i>Corynebacterium</i> spp.	Corineformes no <i>Corynebacterium</i> spp.	Total Corineformes	<i>Corynebacterium</i> spp.	Corineformes no <i>Corynebacterium</i> spp.
Sangre (total)	350	274	76	214	171	43
Sangre (adultos)	301	228	73	163	123	40
Sangre (niños)	49	46	3	51	48	3
Otras muestras no sanguíneas	33 ^a	27	7	38	31	7
Catéter vascular	48	45	3	48	45	3
Total	431 ^a	346	86	300	247	53

^a En una muestra no sanguínea se aíslan en cultivo mixto una corinebacteria y otra bacteria no *Corynebacterium* spp.

Se obtuvieron un total de 300 aislados corineformes, de los cuales 247 (82,3%) pertenecieron al género *Corynebacterium* y 53 (17,7%) a otros géneros (Fig. 11 y 12).

El 81,2% de las muestras estudiadas fueron sangre, tipo de muestra donde se recuperaron el 71,3% de los aislados.

No existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tipos de muestras y presencia de *Corynebacterium* (p: 0,075), salvo al comparar catéter vascular con

sangre, siendo casi 4 veces más frecuente encontrar este aislado en muestra de catéter que en sanguínea ($p: 0,038$; OR: 3,8; IC95%: 1,10-16,0).

El 89% de las muestras clínicas procedieron de pacientes adultos. Únicamente 47 (11,1%) de las 431 muestras estudiadas fueron de origen pediátrico: 45 de sangre (tres de ellas en cultivo mixto de dos corinebacterias) y dos de muestras no sanguínea (LCR y lesión cutánea), donde se aislaron 51 corineformes, 48 corinebacterias (94,1%) y tres *Brevibacterium* spp., frente a los 163 aislados en sangre de adultos, por lo que la muestra sanguínea pediátrica es la que presenta hasta 5 veces más aislados corineformes ($p: 0,007$; OR: 5,2; IC95%: 1,4-22,2).

La caracterización a nivel de género y especie se obtuvo en 286 aislados (95,3%), identificándose 13 géneros y 38 especies. Las proporciones se representan en las Figuras 11 y 12. En 14 aislados (4,7%), 10 pertenecientes al género *Corynebacterium* y cuatro a otros géneros, la identificación fue únicamente a nivel de género.

Figura 11. Proporción de los 13 géneros identificados en 300 aislados corineformes.

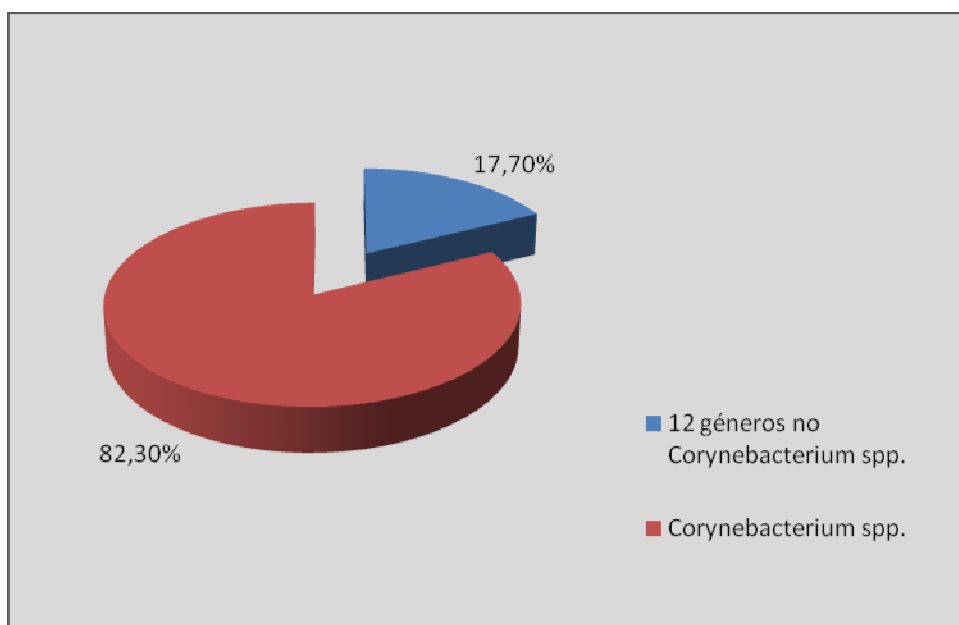
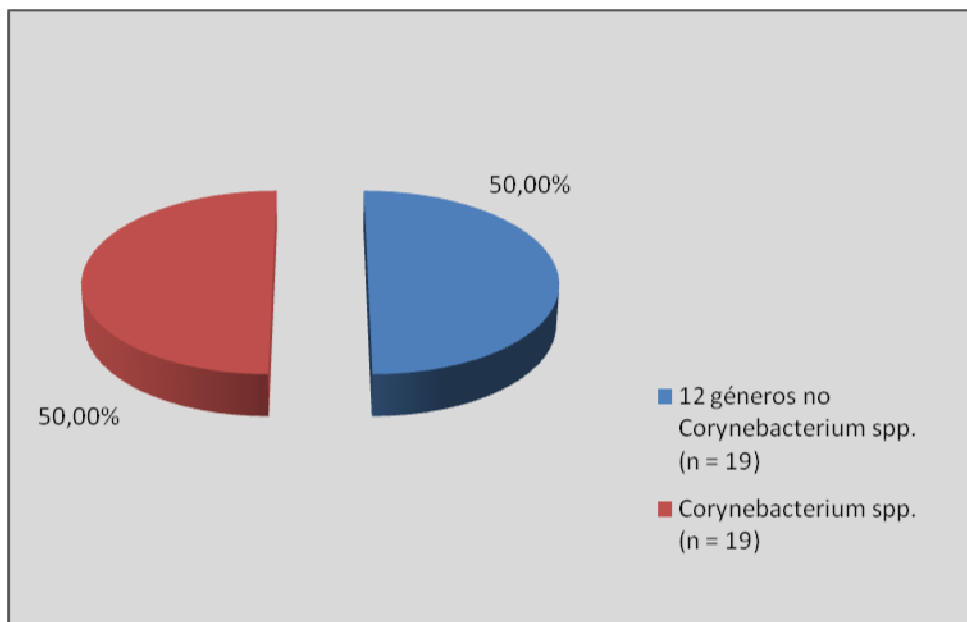


Figura 12. Proporción de las 38 especies identificadas en los 13 géneros incluidos en los 300 aislados corineformes estudiados.



Como se expone en la Tabla 35, la identificación de los 247 aislados del género *Corynebacterium* se realizó a nivel de género y especie en el 96,0% de los aislados y a nivel de género en el 4,0%. Destacó la diversidad de especies, 19 en total, destacando que solo cuatro fueron lipófilas: *C. appendicis*, *C. jeikeium*, *C. urealyticum* y *C. ureicelerivorans*, y predominaron las especies con metabolismo fermentativo (13 de 19), sobre el oxidativo.

Tabla 35. Identificación de los 247 aislados pertenecientes al género *Corynebacterium*.

Especies	Núm. de aislados estudiados*	%
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i>	19	7,7
<i>C. amycolatum</i>	76	30,9
<i>C. appendicis</i>	2	0,8
<i>C. argentoratense</i>	1	0,4
<i>C. aurimucosum</i>	15	6,1
<i>C. coyleae</i>	27	10,9
<i>C. freneyi</i>	3	1,2
<i>C. imitans</i>	4	1,6
<i>C. jeikeium</i>	23	9,3
<i>C. minutissimum</i>	4	1,6
<i>C. mucifaciens</i>	3	1,2
<i>C. propinquum</i>	2	0,8
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	2	0,8
<i>C. riegelii</i>	1	0,4
<i>C. simulans</i>	4	1,6
<i>C. striatum</i>	33	13,5
<i>C. urealyticum</i>	8	3,2
<i>C. ureicelerivorans</i>	8	3,2
<i>C. xerosis</i>	2	0,8
<i>Corynebacterium</i> spp.	10	4,0
Total	247	100

*se excluyeron aislados repetidos

La especie más frecuentemente aislada fue *C. amycolatum* (30,9%; IC95%: 25,1-36,7) seguida de *C. striatum* (13,5%; IC95%: 9,2-17,8), *C. coyleae* (10,9%; IC95%: 7,0 -14,8) (las tres fermentativas y no lipófilas) y *C. jeikeium* (9,3%; IC95%: 5,7-12,9) (oxidativa y lipófila).

En la Tabla 36 se resume la caracterización de los 53 aislados (17,7% del total) no pertenecientes al género *Corynebacterium* obtenidos de 86 muestras clínicas (Tabla 34). Se identificaron 12 géneros y 19 especies (Figuras 11 y 12); cuatro aislados se identificaron a nivel de género. *Brevibacterium* fue el género más frecuente (32,1%, 17 aislados), y *B. casei* la especie más aislada (13,2%, 7 aislados).

Tabla 36. Identificación de los 53 aislados corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium*.

Género/especie	Núm. de aislados estudiados*	%
<i>Actinomyces naeslundii</i>	1	1,9
<i>Arthrobacter cumminsii</i>	2	3,8
<i>Arthrobacter oxydans</i>	1	1,9
<i>Arthrobacter</i> spp.	1	1,9
<i>Brevibacterium casei</i>	7	13,1
<i>Brevibacterium sanguinis</i>	2	3,8
<i>Brevibacterium stationis</i>	5	9,3
<i>Brevibacterium</i> spp.	3	5,7
<i>Dermabacter hominis</i>	5	9,4
<i>Dietzia cinnamea</i>	1	1,9
<i>Dietzia natronolimnaea</i>	2	3,8
<i>Gordonia sputi</i>	5	9,4
<i>Janibacter limosus</i>	1	1,9
<i>Janibacter sanguinis</i>	3	5,7
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	1,9
<i>Microbacterium hominis</i>	1	1,9
<i>Microbacterium oxydans</i>	4	7,5
<i>Mycobacterium canariasense</i>	2	3,8
<i>Rhodococcus fascians</i>	2	3,8
<i>Rothia dentocariosa</i>	3	5,7
<i>Rothia mucilaginosa</i>	1	1,9
Total	53	100

*se excluyeron aislados repetidos

En las Tablas 37 a 43, se detalla el género y especie de los aislados pertenecientes al género *Corynebacterium* separadamente de aquellos no pertenecientes al género *Corynebacterium*, a la vez que su distribución en los tres grupos de muestra: sangre, otras muestras no sanguíneas y catéteres vasculares.

Muestras de sangre. En 274 de las 350 muestras de sangre donde se aislaron bacterias corineformes, 171 fueron corinebacterias. Las 19 especies caracterizadas del género

Corynebacterium fueron aisladas al menos a partir de una muestra de sangre. El número de aislados por especie se expone en la Tabla 37. Correspondieron a 163 pacientes, y hubo cuatro casos de bacteriemia mixta por dos corinebacterias. Se recuperaron cuatro especies en número ≥ 20 aislados. La más frecuente fue *C. amycolatum* (24,0%), seguida de, *C. coyleae* (12,9%), *C. jeikeium* y *C. striatum* (11,7 % ambas).

Tabla 37. Muestras de sangre positivas a especies del género *Corynebacterium* (especies y número) y pacientes de los que se aislaron.

Género/Especie	Núm. de muestras positivas	Núm. de aislados estudiados*	Núm. de pacientes a los que correspondieron
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i>	24	16	16
<i>C. amycolatum</i>	61 ^a	41	41 ^a
<i>C. appendicis</i>	5	2	2
<i>C. argentoratense</i>	1 ^a	1	1 ^a
<i>C. aurimucosum</i>	8	8	8
<i>C. coyleae</i>	30 ^a	22	22 ^a
<i>C. freneyi</i>	1	1	1
<i>C. imitans</i>	3	3	3
<i>C. jeikeium</i>	38	20	18
<i>C. minutissimum</i>	4	4	4
<i>C. mucifaciens</i>	6	3	3
<i>C. propinquum</i>	1	1	1
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	5	2	2
<i>C. riegeli</i>	2	1	1
<i>C. simulans</i>	4	2	2
<i>C. striatum</i>	38 ^a	20	20 ^a
<i>C. urealyticum</i>	14	6	6
<i>C. ureicelerivorans</i>	13	7	5
<i>C. xerosis</i>	4	2	2
<i>Corynebacterium</i> spp.	16 ^a	9	9 ^a
Total	274 ^a	171	163 ^a

*se excluyeron aislados repetidos. ^a En cuatro pacientes se aislaron dos corinebacterias por muestra: *C. amycolatum* y *C. argentoratense*, *C. amycolatum* y *C. coyleae*, *C. amycolatum* y *C. striatum*, *C. amycolatum* y *Corynebacterium* spp.

En las restantes 76 muestras de sangre se aislaron 43 corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium* de 43 pacientes. Todos los aislados de este grupo se recuperaron al menos en una muestra de sangre (a excepción de *Arthrobacter* sp. y *Dietzia cinnamea*,

presentes solo en muestras no sanguíneas: lesión cutánea y líquido ascítico respectivamente). El número de aislados por género y especie se expone en la Tabla 38. Se determinó como BRC permanente en uno de las dos pacientes con bacteriemia por *Dietzia natronolimnaea*.

Los pacientes con bacteriemia por corineformes distintos a *Corynebacterium* fueron 40 adultos y tres niños donde se recuperaron tres aislados del género *Brevibacterium* (dos *B. stationis* y un *B. casei*).

Tabla 38. Muestras de sangre positivas a corineformes distintos de *Corynebacterium* (especies y número) y pacientes de los que se aislaron.

Especie	Núm. de muestras positivas	Núm. de aislados estudiados*	Núm. de pacientes a los que correspondieron
<i>Actinomyces naeslundii</i>	3	1	1
<i>Arthrobacter cummingsii</i>	3	2	2
<i>Arthrobacter oxydans</i>	2	1	1
<i>Brevibacterium casei</i>	9	5	5
<i>Brevibacterium sanguinis</i>	2	2	2
<i>Brevibacterium stationis</i>	3	3	3
<i>Brevibacterium</i> spp.	3	3	3
<i>Dermabacter hominis</i>	11	5	5
<i>Dietzia natronolimnaea</i>	4	2	2
<i>Gordonia sputi</i>	6	4	4
<i>Janibacter limosus</i>	2	1	1
<i>Janibacter sanguinis</i>	6	3	3
<i>Listeria monocytogenes</i>	2	1	1
<i>Microbacterium hominis</i>	2	1	1
<i>Microbacterium oxydans</i>	6	3	3
<i>Mycobacterium canariasense</i>	2	1	1
<i>Rhodococcus fascians</i>	2	1	1
<i>Rothia dentocariosa</i>	6	3	3
<i>Rothia mucilaginosa</i>	2	1	1
Total	76	43	43

*se excluyeron aislados repetidos.

Muestras no sanguíneas, excluidos catéteres vasculares. En 33 muestras no sanguíneas (Tabla 39) procesadas en botellas de hemocultivo, de 30 pacientes, 29 adultos y un pediátrico, se recuperaron 38 aislados corineformes: 31 (81,6%) pertenecientes al género

Corynebacterium recuperados a partir de 27 muestras de 24 pacientes (Tablas 39 y 40), y siete aislados no pertenecientes al género *Corynebacterium* recuperados a partir de siete muestras de siete pacientes (tabla 41). No existen diferencias estadísticamente significativas entre este tipo de muestra y muestras de otras localizaciones: sanguínea y catéter vascular, con *Corynebacterium* y otros tipos de corineformes.

En un paciente, se aisló en un cultivo del orificio de salida de catéter de diálisis peritoneal (OSCDP), *C. amycolatum* y *M. canariasense* (corinebacteria y corineforme en cultivo mixto). Los 11 tipos de muestras a partir de las cuales se recuperaron estas bacterias corineformes se resumen en la Tabla 39. Los tres tipos de muestra más frecuentes supusieron el 63,6% del total: lesión cutánea (8), OSCDP (7) y líquido peritoneal/ascítico (6), estos dos últimos de pacientes nefrológicos en programa de diálisis peritoneal ambulatoria.

Tabla 39. Muestras (distintas de sangre y catéteres vasculares) positivas a corineformes y pacientes de los que se aislaron.

Tipo de muestra	Núm.de muestras positivas a corineformes	Núm. de muestras positivas a organismos del género <i>Corynebacterium</i>	Núm. de aislados de <i>Corynebacterium</i> spp. obtenidos	Núm. de pacientes a los que correspondieron los <i>Corynebacterium</i> spp. aislados
Lesiones cutáneas	8	7	9	7 ^{a, b}
OSCDP**	7	7	8	7 ^c
Líquido peritoneal/ascítico	6	4	5	4 ^c
Biopsia médula ósea	2	0	0	0
Biopsia tejido cutáneo**	2	2	2	2
Líquido articular**	2	2	2	2
Hematoma (PAAF)**	2	2	2	2 ^a
Adenopatía cervical	1	0	0	0
Bolsa concentrado** hematíes	1	1	1	1
Bolsa marcapaso	1	1	1	1 ^b
Líquido cefalorraquídeo	1	1	1	1
Total	33	27	31	24 ^{a, b, c}

^{a, b, c}. Tres pacientes con dos muestras positivas a especies del género *Corynebacterium*: ^a lesión cutánea y hematoma subcutáneo (PAAF) (*C. coyleae*) ^b lesión cutánea y bolsa de marcapaso (*C. afermentans* subsp. *afermentans*), ^c OSCDP y líquido peritoneal (*C. amycolatum* y *C. aurimucosum* en ambas)

En dos de los 11 tipos de muestras no sanguíneas, se recuperaron solo corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium*, siendo todos ellos del género *Brevibacterium*: en las dos biopsias de médula ósea (*B. casei* y *B. stationis*) y en la adenopatía cervical (PAAF) (*B.*

casei). En el paciente pediátrico se trató de una muestra de LCR, recogida mediante punción lumbar traumática, con aislamiento de *C. imitans*.

Se identificaron 10 especies del género *Corynebacterium*. La más frecuente, *C. amycolatum*, 11 cepas, (35,5% de las 31 corinebacterias y 28,9 % del total de corineformes recuperados de muestras no sanguíneas) y fundamentalmente aislada de OSCDP, en seis de los siete casos (Tabla 39 y 40).

Tabla 40. Muestras (distintas de sangre y catéteres vasculares) positivas a especies del género *Corynebacterium* y pacientes de los que se aislaron.

Especies	Núm. de muestras positivas	Núm. de aislados estudiados	Tipo de muestras de donde se aislaron (núm.)	Núm. pacientes a los que correspondieron
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i>	2	2	Bolsa de marcapaso (1). Lesión cutánea (1)*	1*
<i>C. amycolatum</i>	11	11	OSCDP ^a (6). Líquido peritoneal ^b (1)* Lesiones cutáneas ^c (4)	10*
<i>C. aurimucosum</i>	3	3	OSCDP ^a (1). Líquido peritoneal ^b (1)* Líquido articular (1)	2*
<i>C. coyleae</i>	4	4	Líquido ascítico (1) Lesión cutánea (1). Hematoma subcutáneo (1). (PAAF) (1)* Bolsa concentrado hematíes (1)	3*
<i>C. freneyi</i>	2	2	Biopsias cutáneas (2)	2
<i>C. imitans</i>	1	1	LCR (1)	1
<i>C. jeikeium</i>	1	1	OSCDP (1)	1
<i>C. simulans</i>	2	2	Hematoma hepático (PAAF) (1) Lesión cutánea ^{c, d} (1)	2
<i>C. striatum</i>	4	4	Líquido articular de hombro (1) Lesión cutánea ^b (2) Líquido peritoneal (1)	4
<i>C. ureicelerivorans</i>	1	1	Líquido ascítico (1)	1
Total	27 ^{a, b, c, d}	31	27 ^{a, b, c, d}	24*

*3 pacientes con 2 muestras positivas. ^{a, b, c, d} En 4 muestras de 3 pacientes se aíslan en cultivo mixto 2 corinebacterias: ^{a, b} *C. amycolatum* y *C. aurimucosum* en OSCDP y en líquido peritoneal de un paciente. En los otros 2 pacientes: ^c *C. amycolatum* y *C. striatum*, y ^d *C. striatum* y *C. simulans* en lesiones cutáneas respectivas.

Como se expone en la Tabla 40, en tres pacientes se recuperó la misma corinebacteria en dos muestras clínicas: *C. afermentans* subsp. *afermentans* (lesión cutánea y bolsa de marcapaso); *C. coyleae* (lesión cutánea y PAAF de hematoma subcutáneo); *C. amycolatum* y *C. aurimucosum* (OSCDP y líquido peritoneal en ambas muestras del mismo paciente). Por otro lado, en cuatro muestras de tres pacientes se aislaron dos corinebacterias en cultivo mixto.

Los siete corineformes no *Corynebacterium* se recuperaron de cinco tipos de muestra: adenopatía cervical (1), biopsia de médula ósea (2), lesión cutánea (1), líquido peritoneal/ascítico (2) y OSCDP (1), este último en cultivo mixto con una corinebacteria (*C. amycolatum* y *M. canariasense*) y se identificaron como cinco géneros y especies distintos, siendo el más frecuente *Brevibacterium* spp. (4 de las 7 cepas) como se observa en la Tabla 41.

Tabla 41. Corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium* aislados de muestras distintas a sangre y catéteres vasculares.

Género/especie	Núm. de muestras positivas	Núm. de aislados estudiados	Tipo de muestras de donde se aislaron (núm.)	Núm. de pacientes a los que correspondieron
<i>Arthrobacter</i> spp.	1	1	Lesión cutánea (1)	1
<i>Brevibacterium casei</i>	2	2	Adenopatía cervical (1) Biopsia de médula ósea (1)	2
<i>Brevibacterium stationis</i>	2	2	Biopsia de médula ósea (1) Líquido peritoneal (1)	2
<i>Dietzia cinnamomeae</i>	1	1	Líquido ascítico (1)	1
<i>Mycobacterium canariasense</i>	1	1	OSCDP (1) ^a	1
Total	7	7		7

^a En un paciente se obtuvo cultivo mixto de *C. amycolatum* y *M. canariasense*

Muestras de catéteres vasculares. En las Tablas 42 y 43, se resumen los resultados de los aislados recuperados a partir de catéteres vasculares. Se aíslan 48 bacterias corineformes pertenecientes a cuatro especies, 45 (93,7%) corinebacterias y tres no pertenecientes al género *Corynebacterium*, en 48 cultivos positivos de puntas de catéter vascular retiradas, procedentes de 47 pacientes adultos hospitalizados. Se identificaron ocho especies del género *Corynebacterium* en 45 de estos aislados, que correspondieron a 44 pacientes. Se aisló *C. aurimucosum* en dos catéteres vasculares de un mismo paciente. La especie más frecuente fue *C. amycolatum* (53,3%), seguida por *C. striatum* (20,0%) y *C. aurimucosum* (8,9%).

Tabla 42. Muestras de catéteres vasculares positivos a especies del género *Corynebacterium* (especies y número) y pacientes de los que se aislaron.

Especie	Núm. de muestras positivas	Núm. de aislados estudiados*	Núm. de pacientes a los que correspondieron
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i>	1	1	1
<i>C. amycolatum</i>	24	24	24
<i>C. aurimucosum</i>	4	4	3 ^a
<i>C. coyleae</i>	1	1	1
<i>C. jeikeium</i>	2	2	2
<i>C. propinquum</i>	1	1	1
<i>C. striatum</i>	9	9	9
<i>C. urealyticum</i>	2	2	2
<i>Corynebacterium</i> sp.	1	1	1
Total	45	45	44 ^a

*Se excluyeron aislados repetidos. ^a En dos muestras de un paciente se obtuvo el mismo aislado, *C. aurimucosum*

Los tres aislados corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium* se recuperaron en cultivo puro de tres pacientes (Tabla 43). Uno de ellos, *Microbacterium oxydans*, también se aisló de dos muestras de sangre del mismo paciente, con criterios microbiológicos de BRC.

Tabla 43. Corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium* aislados de catéteres vasculares.

Género/especie	Núm. de muestras positivas	Núm. de aislados estudiados	Núm. de pacientes a los que correspondieron
<i>Gordonia sputi</i>	1	1	1
<i>Microbacterium oxydans</i>	1	1	1
<i>Rhodococcus fascians</i>	1	1	1
Total	3	3	3

Por tanto, fueron dos las BRC producidas por corineformes no-corinebacterias, BRC permanente por *D. natronolimnaea* y otra BRC retirado por *M. oxydans*.

Al comparar *C. amycolatum* en catéter vascular con el resto de corinebacterias, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$), siendo casi cuatro veces más frecuente encontrar *C. amycolatum* en catéter vascular que en otro tipo de localización (OR:

3,8; IC95%: 2,0-7,1), lo mismo que al compararlo en catéter vascular y muestra sanguínea ($p < 0,001$; OR: 4,1; IC95%: 2,1-7,7).

No se encuentran diferencias estadísticamente significativas en la distribución del resto de corinebacterias, salvo en el caso de *C. jeikeium*, cuarta corinebacteria en frecuencia, que sí presenta diferencias estadísticamente significativas frente al resto, siendo más frecuente aislarla en muestra sanguínea que en el resto de muestras (p : 0,032; OR: 3,8; IC95%: 1,2-12,1), y en muestra de catéter vascular (p : 0,012; OR: 6,1; IC95%: 1,6-23,9), al contrario de lo que sucede con *C. amycolatum*.

Al comparar estas dos corinebacterias entre sí, se obtiene que el aislamiento de *C. amycolatum* es hasta siete veces más frecuente que el de *C. jeikeium* en catéter vascular (p : 0,012; OR: 6,5; IC95%: 1,6-26,0).

4.2 CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA

La caracterización fenotípica de los 247 aislados pertenecientes al género *Corynebacterium* se realizó mediante tres métodos: sistema comercial API Coryne™ V2.0, API Coryne™ V2.0 más pruebas complementarias y sistema comercial Biolog™ GP2. En las Tablas 44 a 48 se resumen los resultados de cada uno de ellos, comparados con la caracterización genotípica mediante secuenciación de un fragmento de ~ 1.400 pb de 16S rADN (método de referencia).

4.2.1. API Coryne™ V2.0

Mediante API Coryne™ V2.0 se obtuvieron en total 50 perfiles y 11 identificaciones diferentes (Tabla 44). Se pudieron identificar cinco de las 19 especies del género *Corynebacterium* obtenidas por técnica genotípica (16S rADN): *C. argentoratense*, *C. jeikeium*, *C. propinquum*, *C. pseudodiphtheriticum* y *C. urealyticum*.

C. amycolatum fue la especie que mostró mayor diversidad de perfiles (9), siendo dos de ellos, 3100325 y 2100324, los más frecuentes (61,8%), con la identificación bivalente de *C. striatum/amycolatum*. *C. aurimucosum* fue la segunda especie en frecuencia donde se obtuvo el mayor número de perfiles (5), siendo en las dos terceras partes el 2100125, compartido a su vez con *C. minutissimum*. En el resto de especies se obtuvieron entre uno y tres perfiles no siempre coincidentes con la obtenida por método genotípico. Se identificaron 115 aislados (46,5%) con 11 perfiles (22%). Estos 11 perfiles API no específicos, que al menos coinciden en dos especies, y su correspondencia con la identificación genotípica se exponen en la Tabla 45. El perfil 2100304 se obtuvo en la identificación de aislados pertenecientes a cuatro especies. *C. amycolatum* y *C. imitans* compartieron dos perfiles: 2100324 y 2100325. *C. aurimucosum* compartió perfiles API con *C. minutissimum* (2100125) y con *C. mucifaciens* (2100105). En tres aislados identificados como *Corynebacterium* spp. coincidieron tres perfiles diferentes compartidos con otras cuatro especies.

Tabla 44. Perfiles de identificación obtenidos en API Coryne™ V2.0 a las 48 h de incubación correspondientes a la identificación genotípica mediante 16S rADN de 247 aislados del género *Corynebacterium*.

Identificación genotípica de aislados del género <i>Corynebacterium</i> (núm.)	Perfiles API Coryne™ V2.0		Identificación API Coryne™ V2.0	%	T
	núm.	Código numérico (núm. aislados)			
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (19)	2	2100004 (7) 6100004 (12)	<i>C. auris</i> / <i>T. otitidis</i> <i>C. afermentans</i> / <i>coyleae</i>	73, 7 91, 5	1, 00 1, 00
<i>C. amycolatum</i> (76)	9	3100325 (24) 3100324 (23) 2100324 (15) 3100305 (6) 2100304 (3) 2100325 (2) 3100304 (1) 3110324 (1) 1100325 (1)	<i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i> <i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i> <i>C. jeikeium</i> <i>C. gr G</i> <i>C. jeikeium</i> <i>C. gr G</i> <i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i> <i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i> <i>C. macginleyi</i>	65, 4 81, 7 72, 7 55, 5 93, 6 76, 7 43, 7 83, 5 85, 5	0, 99 0, 93 0, 90 0, 89 1, 00 1, 00 0, 86 0, 60 0, 80
<i>C. appendicis</i> (2)	1	2101004 (2) 2101104* (2)	<i>C. urealyticum</i> <i>C. bovis</i>	96, 3 51, 1	1, 00 0, 76
<i>C. argenteratense</i> (1)	1	2100104 (1)	<i>C. argenteratense</i>	79,3	1, 00
<i>C. aurimucosum</i> (15)	5	2100125 (10) 2140125 (2) 2140135 (1) 2101125 (1) 2100105 (1)	<i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i> <i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i> <i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i> <i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i> <i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i>	96,8 96,7 81,7 83,7 88,7	0,98 0,70 0,38 0,84 0,92
<i>C. coyleae</i> (27)	2	6100304 (23) 2100304 (4)	<i>C. jeikeium</i> <i>C. jeikeium</i>	60,0 93,8	0,79 1,00
<i>C. freneyi</i> (3)	1	3110325 (3)	<i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i>	93,7	0,66
<i>C. imitans</i> (4)	2	2100325 (3) 2100324 (1)	<i>C. gr G</i> <i>C. jeikeium</i>	76,7 72,7	1,00 0,90
<i>C. jeikeium</i> (23)	2	2100304 (22) 2100104 (1)	<i>C. jeikeium</i> <i>C. argenteratense</i>	93,8 79,3	1,00 1,00
<i>C. minutissimum</i> (4)	2	2100125 (3) 2100124 (1)	<i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i> <i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i>	96,8 54,7	0,98 0,92
<i>C. mucifaciens</i> (3)	2	6100104 (2) 2100105 (1)	<i>C. afermentans</i> / <i>coyleae</i> <i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i>	74,5 88,7	0,80 0,92
<i>C. propinquum</i> (2)	2	1000004 (1) 7100004 (1)	<i>C. propinquum</i> <i>C. propinquum</i>	96,9 76,9	0,91 0,96
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> (2)	2	3101004 (1) 3001004 (1)	<i>C. pseudodiphtheriticum</i> <i>C. pseudodiphtheriticum</i>	94,9 96,8	0,98 0,97
<i>C. riegliei</i> (1)	1	2101224 (1)	<i>C. jeikeium</i>	40,2	0,33
<i>C. simulans</i> (4)	2	2100305 (3) 3100105 (1)	<i>C. gr G</i> <i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i>	87,0 98,5	1,00 0,94
<i>C. striatum</i> (33)	3	3100105 (31) 1100105 (1) 5100105 (1)	<i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i> <i>C. macginleyi</i> <i>C. macginleyi</i>	98,5 97,2 99,0	0,94 0,87 0,83
<i>C. urealyticum</i> (8)	2	2101004 (6) 2001004 (2)	<i>C. urealyticum</i> <i>C. urealyticum</i>	96,3 98,9	1,00 1,00
<i>C. ureicelerivorans</i> (8)	1	6101004 (8) 6101104** (8)	<i>C. bovis</i> <i>C. bovis</i>	49,0 91,6	0,62 0,80
<i>C. xerosis</i> (2)	2	3110325 (1) 2110325 (1)	<i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i> <i>C. striatum</i> / <i>amycolatum</i>	93,7 67,5	0,66 0,64
<i>Corynebacterium</i> spp. (10)	6	6100305 (3) 6100304 (1) 2100304 (1) 2100305 (1) 2102305 (1) 0100004 (3)	<i>C. gr G</i> <i>C. jeikeium</i> <i>C. jeikeium</i> <i>C. gr G</i> <i>C. gr G</i> <i>C. propinquum</i>	96,8 60,0 93,6 87,0 60,2 55,9	0,98 0,79 1,00 1,00 0,50 0,87
TOTAL (247)	50	38***	11 identificaciones ^a		

*Incubación prolongada hasta siete días. **A las 72 h de incubación. ***Excluidos los de ≥72 h de incubación. ^a Ver especies en la Tabla 46.

Tabla 45. Identificación de 115 aislados del género *Corynebacterium* pertenecientes a 14 especies mediante 11 perfiles API no específicos.

Perfil API Coryne™ V2.0	Identificación genotípica (16S rADN) de 115 aislados del género <i>Corynebacterium</i> (núm.)
2100304	<i>C. jeikeium</i> (22) <i>C. coyleae</i> (4) <i>C. amycolatum</i> (3) <i>Corynebacterium</i> sp. (1)
2100324	<i>C. amycolatum</i> (15) <i>C. imitans</i> (1)
2100325	<i>C. imitans</i> (3) <i>C. amycolatum</i> (2)
3100305	<i>C. amycolatum</i> (6) <i>C. simulans</i> (1)
2101004	<i>C. urealyticum</i> (6) <i>C. appendicis</i> (2)
2100104	<i>C. argentoratense</i> (1) <i>C. jeikeium</i> (1)
2100125	<i>C. aurimucosum</i> (10) <i>C. minutissimum</i> (3)
2100105	<i>C. aurimucosum</i> (1) <i>C. mucifaciens</i> (1)
6100304	<i>C. coyleae</i> (23) <i>Corynebacterium</i> spp. (1)
3110325	<i>C. freneyi</i> (3) <i>C. xerosis</i> (1)
2100305	<i>C. simulans</i> (3) <i>Corynebacterium</i> sp. (1)

Las 11 identificaciones API y su correspondencia con la identificación genotípica de los 247 aislados estudiados se exponen en la Tabla 46.

El 42,9% del total se identificaron como *C. striatum/amycolatum* siendo el resultado más frecuente en la identificación de corinebacterias por este sistema comercial. Correspondieron a todos los aislados identificados genotípicamente como *C. aurimucosum*, *C. minutissimum*, *C. freneyi* y *C. xerosis*, al 93,9% de los *C. striatum*, y 64,5% de los *C. amycolatum*. También resultó con esta identificación *C. mucifaciens* (1) y *C. simulans* (1).

Tabla 46. Correspondencia entre la identificación genotípica (16S rADN) y los 11 resultados de identificación obtenidos mediante el sistema comercial API Coryne™ V2.0 a partir de 38 perfiles en 247 corinebacterias.

Identificación API Coryne™ V2.0	Núm. de aislados (%)	Perfiles API	Correspondencia con especie en identificación genotípica (16S rADN)	
			Núm. total	(núm.) Descripción (%)
<i>C. striatum/amycolatum</i>	106 (42,9)	3100325 3100324 3100304 3110324 3110325 3100105 2100324 2100125 2140125 2140135 2101125 2100105 2100124 2100105	8	49 <i>C. amycolatum</i> (64, 5) 15 <i>C. aurimucosum</i> (100) 3 <i>C. freneyi</i> (100) 4 <i>C. minutissimum</i> (100) 1 <i>C. mucifaciens</i> (33) 1 <i>C. simulans</i> (25) 31 <i>C. striatum</i> (93, 9) 2 <i>C. xerosis</i> (100)
<i>C. jeikeium</i>	71 (28,8)	2100324 2100304 2101224 6100304	5 2 <i>C. sp</i> ^a	18 <i>C. amycolatum</i> (23,7) 27 <i>C. coyleae</i> (100) 22 <i>C. jeikeium</i> (95,6) 1 <i>C. imitans</i> 1 <i>C. rieglia</i> 2 <i>Corynebacterium</i> spp.
<i>Corynebacterium</i> gr G	19 (7,7)	3100305 2100325 2100305 6100305 2100305 2102305	4*	8 <i>C. amycolatum</i> (10, 5) 3 <i>C. imitans</i> (75) 3 <i>C. simulans</i> (75) 5 <i>Corynebacterium</i> spp. (50)
<i>C. afermentans/coyleae</i>	14 (5,7)	6100004 6100104	2	12 <i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (63,2) 2 <i>C. mucifaciens</i> (75)
<i>C. urealyticum</i> **	10 (4)	2101004 2001004	2	2 <i>C. appendicis</i> (100) 8 <i>C. urealyticum</i> (100)
<i>C. bovis</i> **	8 (3,2)	6101004	1	8 <i>C. ureicelerivorans</i> (100)
<i>C. auris/T. otitidis</i>	7 (2,8)	2100004	1	7 <i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (36,8)
<i>C. propinquum</i>	5 (2)	1000004 7100004 0100004	1 3 <i>C. sp</i> ^a	2 <i>C. propinquum</i> (100) 3 <i>Corynebacterium</i> sp. (30)
<i>C. macginleyi</i>	3 (1,2)	1100325 1100105 5100105	2*	1 <i>C. amycolatum</i> (1,3) 2 <i>C. striatum</i> (6,1)
<i>C. argentoratense</i>	2 (0,8)	2100104	2	1 <i>C. argentoratense</i> (100) 1 <i>C. jeikeium</i> (4,3)
<i>C. pseudodiphtheriticum</i>	2 (0,8)	3101004 3001004	1	2 <i>C. pseudodiphtheriticum</i> (100)

^a: *Corynebacterium* sp. * Todos los aislados fueron no lipófilos. ** A las 48 h de incubación.

C. jeikeium fue la segunda identificación más frecuente (28,8%). Se identificaron con el perfil 2100304 el 95,6% de los aislados de *C. jeikeium*. Todos los *C. coyleae* se identificaron como *C. jeikeium* con el perfil 6100304 en el 85,2% de los casos.

El 63,2% de *C. afermentans* subsp. *afermentans* se identificaron como *C. afermentans/coyleae* y el 36,8% como *C. auris/T. otitidis*.

Se identificaron como *C. urealyticum* con incubación de 48 h, todos los *C. urealyticum* y *C. appendicis* con dos perfiles diferentes, siendo el más frecuente 2101004 (80%).

Los ocho aislados de *C. ureicelerivorans* se identificaron como *C. bovis*, tanto a las 48 h (perfil 6101004) como a las 72 h de incubación (perfil 6101104) y los dos *C. appendicis* cuando se prolongó la incubación 72 h (perfil 2101104) con producción débil de ácido a partir de glucosa.

Todos los aislados correspondientes a cuatro especies: *C. propinquum* (2), *C. argentoratense* (1), *C. urealyticum* (8) y *C. pseudodiphtheriticum* (2), se identificaron como tales en el sistema API, pero los perfiles no fueron exclusivos, correspondiendo también a otras identificaciones genotípicas de *Corynebacterium* spp., *C. jeikeium* o *C. appendicis* en las tres primeras respectivamente (Tabla 46).

4.2.2. API Coryne™ V2.0 y pruebas complementarias (PC).

A partir de las características del cultivo, y la lectura de las pruebas incluidas en el sistema API Coryne™ V2.0, se completó la caracterización con otras pruebas convencionales según lo expuesto en el apartado de material y métodos: lipofilia, susceptibilidad al disco con 150 µg de factor vibriostático O/129, producción de DNAsa, hidrólisis de la tirosina, prueba de Christie-Atkins-Munch-Peterson (CAMP), fermentación de glucosa a 42°C y cultivo en agar sangre a 20°C (±1°C) a las 72 h de incubación; asimilación de maltosa, N-acetil-glucosamina (NAG) y de fenilacetato (PAC) mediante el sistema API NE™ (bioMérieux S.A., Francia).

Tabla 47. Identificación de 247 aislados de corinebacterias mediante API Coryne™ V2.0 y pruebas complementarias (PC) en relación con la obtenida en la identificación genotípica por secuenciación 16S rADN.

Identificación genotípica (núm.)	Identificación API y PC (núm.)	% de correlación	Pruebas complementarias más destacables ^a
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (19)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (19)	100	Colonias convexas, blancas, húmedas. Gram: bacilos cortos. DNAsa-. No lipófila. Gluc -, Rib-
<i>C. amycolatum</i> (76)	<i>C. amycolatum</i> (76)	100	Colonias encerradas, irregulares, beige. No lipofilia. AS 20°C +. Gluc 42°C +. NAG- PAC-. MAL+. R a O/129
<i>C. appendicis</i> (2)	<i>C. urealyticum</i> (2)	0	Gluc (+) lento (3-7 d). Fermentativa. Anaerobia facultativa. βGal -. Oxidasa -
<i>C. argentoratense</i> (1)	<i>C. argentoratense</i> (1)	100	No lipófila. Ácido de Rib -
<i>C. aurimucosum</i> (15)	<i>Corynebacterium</i> sp. (15)	0	Colonias adherentes y amarillentas o negras. Esc V. Man-.
<i>C. coyleae</i> (27)	<i>C. coyleae</i> (27)	100	Colonias húmedas. No lipofilia. Ácido de Gluc y Rib+. CAMP +
<i>C. freneyi</i> (3)	<i>C. freneyi</i> (3)	100	Colonias secas, irregulares, blanquecino-amarillentas. αGluc +. Crecim AS 20°C 3 d y ferm de Gluc 42°C 3 d +. S a O/129
<i>C. imitans</i> (4)	<i>C. imitans</i> (4)	100	No lipófila. CAMP+. R a O/129. Colonias grisáceas, cremosas, bordes enteros. Mal + y de glicógeno -. TD-. TIR-. NIT-
<i>C. jeikeium</i> (23)	<i>C. jeikeium</i> (23)	100	Aerobiosis estricta. Ácido de fructosa negativo (C. gr G). Lipófila. Rib +
<i>C. minutissimum</i> (4)	<i>Corynebacterium</i> sp. (4)	0	NAG+ PAC+ MAL+. No pigmentación. S a O/129+. TIR+. ESC-. AS 20°C -
<i>C. mucifaciens</i> (3)	<i>C. mucifaciens</i> (3)	100	Colonias amarillas y mucosas. NAG-. PAC-. MAL-. CAMP-. Glu+
<i>C. propinquum</i> (2)	<i>C. propinquum</i> (2)	100	TIR+
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> (2)	<i>C. pseudodiphtheriticum</i> (2)	100	NIT+, URE+, anaerobiosis facultativa. No lipófila
<i>C. riegeli</i> (1)	<i>C. riegeli</i> (1)	100	No lipófila. Glu- y Mal+
<i>C. simulans</i> (4)	<i>C. simulans</i> (4)	100	AS 20°C -. Nitritos (reducción)+
<i>C. striatum</i> (33)	<i>C. striatum</i> (33)	100	Colonias húmedas, enteras. TIR+. NAG- PAC+ MAL-. NIT- AS 20°C +. Gluc 42°C+
<i>C. urealyticum</i> (8)	<i>C. urealyticum</i> (8)	100	URE muy rápida. Aerobiosis estricta. Oxidativo. No asimilación de azúcares.
<i>C. ureicelerivorans</i> (8)	<i>C. ureicelerivorans</i> (8)	100	URE muy rápida. Anaerobio facultativo. Gluc + a 72h. Rib y Xyl (+). PAL+. βGal -. Oxidasa -. HIP+
<i>C. xerosis</i> (2)	<i>C. xerosis</i> (2)	100	Colonias secas, irregulares, amarillas. αGlu +. AS 20°C +. Gluc 42°C -. S a O/129
<i>Corynebacterium</i> spp. (10)	<i>Corynebacterium</i> sp. (10)	70	Fermentativas. No lipófilas

^a AS 20°C: crecimiento en agar sangre a 20°C a los tres días de incubación. Gluc 42°C: Fermentación de glucosa a 42°C a los tres días de incubación. URE: hidrólisis de urea. NIT: reducción de nitratos. TIR: hidrólisis de tirosina. αGluc: α Glucosidasa. βGal : β Galactosidasa. NAG: N-acetil glucosamina. PAC: Fenilacetato. MAL: asimilación de maltosa. HIP: hidrólisis de hipurato. Fermentación de: glucosa (Glu), maltosa (Mal), ribosa (Rib), manitol (Man), xilosa (Xyl).+: Positiva; -: Negativa., (+): Positiva débil. R: Resistente. S: Sensible. TD: toxina diftérica.

Los resultados se exponen en la Tabla 47. En ocasiones se requirió incubaciones de hasta 96 h (lectura de pruebas de asimilación en API NETM) y de 72 h (fermentación de glucosa a 42°C y crecimiento en agar sangre a 20°C). Se obtuvo una correlación del 100% en todas las especies excepto en tres: *C. appendicis*, *C. aurimucosum* y *C. minutissimum* y el 70% de los aislados identificados a nivel de género, *Corynebacterium* spp., siendo el 30% restante identificados erróneamente como *C. propinquum*.

4.2.3. Biolog TM GP2.

Mediante el sistema comercial BiologTM GP2 se identificaron 11 de las 19 especies identificadas genotípicamente. No se obtuvo crecimiento en cinco aislados. Los resultados obtenidos con este sistema y su correlación con la identificación genotípica se exponen en la Tabla 48.

La correlación con la identificación genotípica fue del 100% en: *C. amycolatum*, *C. minutissimum* y *C. striatum*; y del 86,9% en *C. jeikeium*. Por tanto Biolog destaca sobre API y API más pruebas complementarias en la identificación de *C. minutissimum*.

Las ventajas observadas de Biolog sobre API fueron: i) Mayor número de especies identificadas, 11 en Biolog frente a cinco en API. ii) Identificación de *C. amycolatum*, *C. minutissimum* y *C. striatum* con 100% de correlación con la identificación genotípica. También otras especies como *C. afermentans* subsp. *afermentans* (63,1%), *C. imitans* (75,0%), *C. coyleae* (59,2%) y *C. mucifaciens* (33,3%) no identificadas en API por no estar incluidas en su base de datos o no de manera individualizada.

Tabla 48. Identificación de 247 aislados de corinebacterias mediante Biolog™ GP2 en relación con la obtenida en la identificación genotípica por secuenciación 16S rADN.

Identificación genotípica (núm.)	Identificación Biolog™ GP2 (núm.)	Correlación (%)
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (19)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (12) <i>C. afermentans</i> subsp. <i>lipophilum</i> (2) <i>C. mucifaciens</i> (1) <i>C. urealyticum</i> (1) <i>Corynebacterium</i> sp. (2) <i>Corynebacterium</i> gr G (1)	12/19 (63,1)
<i>C. amycolatum</i> (76)	<i>C. amycolatum</i> (76)	76/76 (100)
<i>C. appendicis</i> (2)	<i>Corynebacterium</i> sp. (2)	0/2
<i>C. argentoratense</i> (1)	<i>Corynebacterium</i> sp. (1)	0/1
<i>C. aurimucosum</i> (15)	<i>C. minutissimum</i> (8) <i>Tsukamurella inchoensis</i> (3) <i>Corynebacterium</i> gr G (1) <i>C. mastitidis</i> (1) <i>C. singulare</i> (1) <i>C. thomsssenii</i> (1)	0/15 (0,0)
<i>C. coyleae</i> (27)	<i>C. coyleae</i> (16) <i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (1) <i>Corynebacterium</i> gr G (2) <i>C. accolens</i> (1) <i>C. camporealensis</i> (1) <i>Cellulomonas cellaseae</i> (1) <i>Tsukamurella inchoensis</i> (3) <i>Gordona</i> sp. (1) No crecimiento (1)	16/27 (59,2)
<i>C. freneyi</i> (3)	<i>Tsukamurella inchoensis</i> (1) <i>C. xerosis</i> (2)	0/3
<i>C. imitans</i> (4)	<i>C. imitans</i> (3) <i>Corynebacterium</i> gr G (1)	3/4
<i>C. jeikeium</i> (23)	<i>C. jeikeium</i> (20) <i>Corynebacterium</i> sp. (3)	20/23 (86,9)
<i>C. minutissimum</i> (4)	<i>C. minutissimum</i> (4)	4/4 (100)
<i>C. mucifaciens</i> (3)	<i>C. mucifaciens</i> (1) <i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (2)	1/3
<i>C. propinquum</i> (2)	<i>C. propinquum</i> (1) No crecimiento (1)	1/2
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> (2)	<i>C. pseudodiphtheriticum</i> (1) <i>Corynebacterium</i> gr G (1)	1/2
<i>C. riegliei</i> (1)	<i>C. ulcerans</i> (1)	0/1
<i>C. simulans</i> (4)	<i>Corynebacterium</i> gr G (1) <i>Corynebacterium</i> sp. (1) <i>C. camporealensis</i> (1) <i>Clavibacter michiganense</i> (1)	0/4
<i>C. striatum</i> (33)	<i>C. striatum</i> (33)	33/33 (100)
<i>C. urealyticum</i> (8)	<i>C. urealyticum</i> (6) No crecimiento (2)	6/8 (75)
<i>C. ureicelerivorans</i> (8)	<i>C. jeikeium</i> (5) <i>C. auris</i> (1) No crecimiento (1)	0/8 (0)
<i>C. xerosis</i> (2)	<i>C. mastitidis</i> (1) <i>C. matruchotii</i> (1)	0/2
<i>Corynebacterium</i> spp. (10)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (2) <i>C. auris</i> (1) <i>C. coyleae</i> (1) <i>Corynebacterium</i> gr G (3) <i>C. mucifaciens</i> (1) <i>Arthrobacter flavescens</i> (1) No crecimiento (1)	0/10

Las ventajas de API sobre Biolog son: mayor porcentaje de identificación de *C. jeikeium* (el 95,6% en API frente a 86,9% en Biolog), *C. urealyticum* (100% frente a 75,0%), *C. propinquum* y *C. pseudodiphtheriticum* (100% frente a 50,0%) y *C. argentoratense*, como una de las ocho especies no identificadas en Biolog.

La ventaja de Biolog sobre API y sobre API más pruebas complementarias, fue que Biolog identificó los cuatro aislados de *C. minutissimum* (S: 100%), pero sin embargo también identificó erróneamente ocho *C. aurimucosum* (53,3%) como *C. minutissimum* (E: 46,7%; VPP: 33,3%).

Ninguno de los dos sistemas comerciales de caracterización fenotípica, por sí solos, logró identificar las siguientes siete especies: *C. appendicis*, *C. aurimucosum*, *C. freneyi*, *C. riegelii*, *C. simulans*, *C. ureicelerivorans* y *C. xerosis*.

4.3. COMPARACIÓN DE RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA

Como se ha expuesto en el apartado de material y métodos, la caracterización genotípica de los 300 corineformes aislados en los cinco años de estudio se realizó mediante la secuenciación de un fragmento de ~1.400 pb de 16S rADN. Se han identificado 247 corinebacterias (82,3%), 237 de ellas correspondientes a 19 especies y en los 10 aislados restantes, únicamente se llegó a la identificación a nivel de género (4,0%).

Se consideró esta caracterización genotípica como punto de referencia al establecer comparación de resultados con los tres métodos fenotípicos referidos.

En las Tablas 49 a 51 se resumen los resultados obtenidos al establecer la comparación de los resultados obtenidos entre la caracterización genotípica con cada uno de los métodos de caracterización fenotípica, y en la Tabla 52 un resumen de los valores obtenidos en las mismas.

Tabla 49. Género *Corynebacterium*: caracterización fenotípica mediante API Coryne™ V2.0 vs caracterización genotípica (16S rADN).

Identificación fenotípica (API Coryne™ V2.0) (núm. aislados)																				(núm. total) Otras especies ^a	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
1 (19)	0																			19	
2 (76)	0							18												49	(9) 8 <i>Corynebacterium</i> gr G, 1 <i>C. macginleyi</i>
3 (2)		0														2					
4 (1)			1																		
5 (15)				0																15	
6 (27)					0			27													
7 (3)							0													3	
8 (4)								0													(4) <i>Corynebacterium</i> gr G
9 (23)			1						22												
10 (4)									0											4	
11 (3)										0										3	
12 (2)											2										
13 (2)												2									
14 (1)								1						0							
15 (4)															0					1	(3) <i>Corynebacterium</i> gr G
16 (33)																0				31	(2) <i>C. macginleyi</i>
17 (8)																8					
18 (8)																	0				(8) <i>C. bovis</i>
19 (2)																		0	2		
20 (10)								2								3				0	(5) <i>Corynebacterium</i> gr G

1: *C. afermentans* subsp. *afermentans*. 2: *C. amycolatum*. 3: *C. appendicis*. 4: *C. argenteolactescens*. 5: *C. aurimucosum*. 6: *C. coyleae*. 7: *C. freneyi*. 8: *C. imitans*. 9: *C. jeikeium*. 10: *C. minutissimum*. 11: *C. mucifaciens*. 12: *C. propinquum*. 13: *C. pseudodiphtheriticum*. 14: *C. rieglitii*. 15: *C. simulans*. 16: *C. striatum*. 17: *C. urealyticum*. 18: *C. ureicelerivorans*. 19: *C. xerosis*. 20: *Corynebacterium* spp.
^a Especies no identificadas genotípicamente.

Tabla 50. Género *Corynebacterium*: caracterización fenotípica mediante API Coryne™ V2.0 más pruebas complementarias vs caracterización genotípica (16S rADN).

Identificación fenotípica (API Coryne V2.0™ más pruebas complementarias) (núm. aislados)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	(núm. total) Otras especies ^a
Identificación genotípica (16S rADN) (núm. aislados)	1 (19)	19																				
	2 (76)		76																			
	3 (2)			0																		
	4 (1)				1																	
	5 (15)					0														15		
	6 (27)						27															
	7 (3)							3														
	8 (4)								4													
	9 (23)									23												
	10 (4)										0										4	
	11 (3)											3										
	12 (2)												2									
	13 (2)													2								
	14 (1)														1							
	15 (4)															4						
	16 (33)																33					
	17 (8)			2														8				
	18 (8)																		8			
	19 (2)																			2		
	20 (10)												3								7	

1: *C. afermentans* subsp. *afermentans*. 2: *C. amycolatum*. 3: *C. appendicis*. 4: *C. argenteorotense*. 5: *C. aurimucosum*. 6: *C. coyleae*. 7: *C. freneyi*. 8: *C. imitans*. 9: *C. jeikeium*. 10: *C. minutissimum*. 11: *C. mucifaciens*. 12: *C. propinquum*. 13: *C. pseudodiphtheriticum*. 14: *C. rieglitii*. 15: *C. simulans*. 16: *C. striatum*. 17: *C. urealyticum*. 18: *C. urelicelerivorans*. 19: *C. xerosis*. 20: *Corynebacterium* spp.

^aEspecies no identificadas genotípicamente.

Tabla 51. Género *Corynebacterium*: identificación fenotípica mediante Biolog™ GP vs caracterización genotípica (16S rADN).

Identificación fenotípica (Biolog™ GP) (núm. aislados)																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	(núm. total) Otras especies ^a / (núm.) No crecimiento
1 (19)	12										1						1			2	(3) 2 <i>C. afermentans</i> subsp. <i>lipophilum</i> , 1 <i>Corynebacterium</i> gr G
2 (76)		76																			
3 (2)			0																	2	
4 (1)				0																	(1) <i>Corynebacterium</i> gr G
5 (15)					0					8											(7) 3 <i>T. inchorensis</i> , 1 <i>C. singulare</i> , 1 <i>C. mastitidis</i> , 1 <i>Corynebacterium</i> gr G, 1 <i>C. thomsseni</i> .
6 (27)	1					16															(10) 3 <i>T. inchorensis</i> , 2 <i>C. accolens</i> , 2 <i>C. gr G</i> , 1 <i>C. camporealensis</i> , 1 <i>C. cellaseae</i> , 1 <i>Gordona</i> sp.
7 (3)							0												2		(1) <i>T. inchorensis</i>
8 (4)								3													(1) <i>Corynebacterium</i> gr G
9 (23)									20											3	
10 (4)										4											
11 (3)	2										1										
12 (2)												1									(0)/(1)
13 (2)													1								(1) <i>Corynebacterium</i> gr G
14 (1)														0							(1) <i>C. ulcerans</i>
15 (4)															0				1		(3) 1 <i>Corynebacterium</i> gr G, 1 <i>C. camporealensis</i> , 1 <i>C. michiganense</i> .
16 (33)																33					
17 (8)																	6				(0)/(2)
18 (8)									6									0			(1) <i>C. auris</i> / (1)
19 (2)																			2		(2) 1 <i>C. matruchotii</i> , 1 <i>C. mastitidis</i>
20 (10)	2					1					1									0	(5) 3 <i>Corynebacterium</i> gr G, 1 <i>C. auris</i> , 1 <i>A. flavescens</i> /(1)

1: *C. afermentans* subsp. *afermentans*, 2: *C. amycolatum*, 3: *C. appendicis*, 4: *C. argentoratense*, 5: *C. aurimucosum*, 6: *C. coyleae*, 7: *C. freneyi*, 8: *C. imitans*, 9: *C. jeikeium*, 10: *C. minutissimum*.

11: *C. mucifaciens*, 12: *C. propinquum*, 13: *C. pseudodiphtheriticum*, 14: *C. rieglitii*, 15: *C. simulans*, 16: *C. striatum*, 17: *C. urealyticum*, 18: *C. ureicelerivorans*, 19: *C. xerosis*, 20: *Corynebacterium* spp.

^a Especies no identificadas genotípicamente.

Tabla 52. Resumen de los resultados obtenidos en la caracterización genotípica mediante secuenciación de un fragmento de ~1.400 pb de 16S rADN: correlación con la identificación fenotípica mediante tres métodos*.

Caracterización genotípica del género <i>Corynebacterium</i> (núm. aislados)	Caracterización fenotípica. Núm. de aislados		
	API Coryne™ V2.0	API Coryne™ V2.0 más pruebas complementarias	Biolog™ GP
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (19)	0	19	12
<i>C. amycolatum</i> (76)	0	76	76
<i>C. appendicis</i> (2)	0	0	0
<i>C. argentoratense</i> (1)	1	1	0
<i>C. aurimucosum</i> (15)	0	0	0
<i>C. coyleae</i> (27)	0	27	16
<i>C. freneyi</i> (3)	0	3	0
<i>C. imitans</i> (4)	0	4	3
<i>C. jeikeium</i> (23)	22	23	20
<i>C. minutissimum</i> (4)	0	0	4
<i>C. mucifaciens</i> (3)	0	3	1
<i>C. propinquum</i> (2)	2	2	1
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> (2)	2	2	1
<i>C. riegelii</i> (1)	0	1	0
<i>C. simulans</i> (4)	0	4	0
<i>C. striatum</i> (33)	0	33	33
<i>C. urealyticum</i> (8)	8	8	6
<i>C. ureicelerivorans</i> (8)	0	8	0
<i>C. xerosis</i> (2)	0	2	0
<i>Corynebacterium</i> spp. (10)	0	7	0
TOTAL (Precisión %)	35 (14,2)	223 (90,3)	173 (70,0)

*247 aislados (total)

Con API Coryne™ V2.0 se identificaron 35 aislados coincidentes con la caracterización genotípica (precisión: 14,2%; IC95%: 9,5-18,5); 126 aislados como *Corynebacterium* sp. por resultar una identificación dual; 32 aislados como otras especies (todas lipófilas y 22 de ellas como *Corynebacterium* gr G) y 54 aislados (21,9%) con identificaciones erróneas o no coincidentes con la genotípica, siendo 48 de éstos identificados como *C. jeikeium*. Los 35 aislados de identificación coincidente con la genotípica pertenecieron a cinco especies: *C. argentoratense* (1 de 1), *C. jeikeium* (22 de 23), *C. propinquum* (2 de 2), *C. pseudodiphtheriticum* (2 de 2) y *C. urealyticum* (8 de 8) como se expone en la Tabla 49.

Con API Coryne™ V2.0 más pruebas complementarias se identificaron 223 aislados (precisión: 90,3%; IC95%: 86,6–93,9) coincidentes con la caracterización genotípica, 19 aislados como *Corynebacterium* sp. correspondientes a 15 *C. aurimucosum* y 4 *C. minutissimum*, especies que no se identificaron por no poder discriminar entre ellas a causa de la gran variabilidad en el resultado de las pruebas complementarias y semejanza en el aspecto de sus colonias. No se identificó aislado alguno como otra especie y en 5 aislados (2%) fue errónea o no coincidente con la genotípica, la identificación a las 48 horas de incubación del sistema API: *C. urealyticum* en lugar de *C. appendicis* (2 de 2) por requerir incubación prolongada para poner de manifiesto la fermentación lenta de glucosa y *C. propinquum* en lugar de *Corynebacterium* sp. (3 de 10) (Tabla 50).

Con Biolog™ GP2 se identificaron 173 aislados (precisión: 70%; IC95%: 64,3–75,3) coincidentes con la caracterización genotípica; ocho aislados como *Corynebacterium* sp.; 25 (10,1%) aislados se identificaron erróneamente, destacando *C. jeikeium* en lugar de *C. ureicelerivorans* (6 de 8) y *C. minutissimum* en lugar de *C. aurimucosum* (8 de 15). En cinco ocasiones el aislado no creció en los paneles. En contraposición con los anteriores sistemas de caracterización fenotípica, destacaron los 36 aislados (14,6%) con otras identificaciones, 14 diferentes entre sí, no perteneciendo al género *Corynebacterium* 10 de ellos, como se expone en la Tabla 51.

4. 4. ESTUDIO DE SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS

4.4.1. Concentraciones Mínimas Inhibitorias (µg/mL) de 17 antibióticos frente a 247 aislados del género *Corynebacterium* y tasa de resistencia

Las Tablas 53 a 60 presentan las CMI de 17 antibióticos frente a ocho especies de *Corynebacterium* así como las tasas de resistencia.

Tabla 53. Concentraciones mínimas inhibitorias (µg/mL) de 17 antibióticos frente a 76 aislados de *C. amycolatum* y tasa de resistencia.

Antimicrobianos	Rango	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Resistencia (%)
Penicilina	<0,016 - >256	>256	>256	84,2 ^a
Ampicilina	<0,016 - >256	>256	>256	90,8 ^a
Imipenem	0,004 - >32	>32	>32	81,6 ^a
Ertapenem	0,064 - >32	>32	>32	64,5 ^a
Ciprofloxacino	0,012 - >32	6	>32	61,8 ^a
Moxifloxacino	0,006 - >32	0,38	>32	42,1 ^a
Gentamicina	<0,016 – 16	0,64	4	3,9 ^b
Rifampicina	<0,016 - >256	<0,016	>256	14,5 ^b
Tetraciclina	0,047 – 32	0,19	0,75	53,0 ^a
Cloranfenicol	0,19 - >256	24	64	61,8 ^b
Vancomicina	0,38 – 0,75	0,5	0,75	0
Linezolida	0,047 – 0,25	0,125	0,19	0
Eritromicina	<0,016 - >256	>256	>256	82,9 ^a
Claritromicina	<0,016 - >256	>256	>256	81,6 ^b
Azitromicina	0,032 - >256	>256	>256	82,9 ^b
Clindamicina	<0,016 - >256	>256	>256	75,0 ^b
Quinupristina/Dalfopristina	<0,016 – 2	0,25	1	11,8 ^c

^a Todas las cepas con alto nivel de resistencia. ^b Resistencia de alto y bajo nivel. ^c Todas las cepas con bajo nivel de resistencia

Los 76 aislados estudiados de *C. amycolatum* mostraron un patrón de multirresistencia antibiótica, entendiendo como tal a la resistencia a tres o más grupos de antibióticos no relacionados entre sí y que podrían estar indicados en el tratamiento en caso de infección causada por este agente (Tabla 53). Destacó la alta tasa de resistencia (>81,6%) a antibióticos

betalactámicos, a excepción de ertapenem (64,5%), siendo el betalactámico más activo. La resistencia a macrólidos y clindamicina fue $\geq 75\%$. Cerca de la mitad de los aislados mostraron resistencia a quinolonas, tetraciclina y cloranfenicol. Se observaron tasas $<15,0\%$ de resistencia a gentamicina, quinupristina/dalfopristina y rifampicina, observando en este último antibiótico valores de CMI extremos tanto en el rango ($<0,016$ a >256 $\mu\text{g/mL}$) como en la CMI₅₀ y CMI₉₀.

Los 33 aislados de *C. striatum* (Tabla 54) también presentaron un patrón de multirresistencia: altos porcentajes de resistencia a quinolonas (96,7%) y rifampicina (87,9%). Es la segunda especie con tasa de resistencia a quinolonas, en orden de frecuencia, después de *C. urealyticum* (100%). Destacaron: i) la mayor resistencia observada a clindamicina que a macrólidos, y dentro de ellos la mayor actividad la presentó claritromicina, y ii) la baja tasa de resistencia a betalactámicos ($\leq 15,1\%$), sobre todo en ampicilina e imipenem (3%).

Tabla 54. Concentraciones mínimas inhibitorias ($\mu\text{g/mL}$) de 17 antibióticos frente a 33 aislados de *C. striatum* y tasa de resistencia.

Antimicrobianos	Rango	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Resistencia (%)
Penicilina	0,125 - >256	0,5	1,5	15,1 ^b
Ampicilina	0,125 - >256	0,75	1,5	3,0 ^a
Imipenem	0,023 - >32	0,047	0,19	3,0 ^a
Ertapenem	0,023 - >32	0,25	0,75	6,1 ^a
Ciprofloxacino	0,094 - >32	>32	>32	96,7 ^a
Moxifloxacino	0,047 - >32	4	>32	96,7 ^a
Gentamicina	0,016 - >256	2	>256	36,4 ^a
Rifampicina	$<0,016$ - >256	>256	>256	87,9 ^a
Tetraciclina	0,094 - >256	1	24	24,2 ^a
Cloranfenicol	0,25 - >256	24	32	60,6 ^b
Vancomicina	0,38 - 0,75	0,5	0,75	0
Linezolid	0,064 - 0,75	0,19	0,75	0
Eritromicina	$<0,016$ - >256	0,75	>256	51,5 ^b
Claritromicina	$<0,016$ - >256	0,5	>256	45,4 ^a
Azitromicina	0,016 - >256	>256	>256	63,6 ^a
Clindamicina	0,25 - >256	>256	>256	72,7 ^b
Quinupristina/Dalfopristina	0,25 - 1,5	0,5	1	9,1 ^c

^a Todas las cepas presentaron alto nivel de resistencia. ^b Resistencia de alto y bajo nivel. ^c Todas las cepas presentaron bajo nivel de resistencia.

Tabla 55. Concentraciones mínimas inhibitorias ($\mu\text{g/mL}$) de 17 antibióticos frente a 27 aislados de *C. coyleae* y tasa de resistencia.

Antimicrobianos	Rango	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Resistencia (%)
Penicilina	0,023 - >256	0,5	1,5	22,2 ^b
Ampicilina	<0,016 – 4	0,5	2	0
Imipenem	0,023 – 0,25	0,047	0,19	0
Ertapenem	0,023 - >32	0,38	4	14,8 ^b
Ciprofloxacino	0,016 - >32	0,064	>32	29,6 ^a
Moxifloxacino	0,008 - >32	0,023	>32	29,6 ^b
Gentamicina	<0,016 – 3	0,38	1,5	0
Rifampicina	<0,016 – 0,032	0,016	0,023	0
Tetraciclina	0,047 – 4	0,125	2	0
Cloranfenicol	0,25 – 32	1	24	25,9 ^b
Vancomicina	0,25 – 0,75	0,38	0,5	0
Linezolida	0,064 – 0,75	0,19	0,25	0
Eritromicina	<0,016 - >256	>256	>256	92,6 ^b
Claritromicina	<0,016 - >256	12	>256	74,1 ^b
Azitromicina	0,032 - >256	>256	>256	88,9 ^b
Clindamicina	0,19 - >256	>256	>256	96,3 ^b
Quinupristina/Dalfopristina	0,38 - >32	1	2	48,1 ^c

^a Todas las cepas presentaron alto nivel de resistencia. ^b Resistencia de alto y bajo nivel. ^c Resistencia de alto y bajo nivel con predominio de resistencia de bajo nivel.

Todos los aislados de *C. coyleae* (Tabla 55) fueron sensibles, además de a vancomicina y linezolida, a gentamicina, rifampicina, y tetraciclina, así como a dos de los betalactámicos: ampicilina, imipenem, pero con resistencia a ertapenem (14,8%) y penicilina (22,2%). Se observó un alto porcentaje de resistencia a antibióticos del grupo MLS_B, destacando la resistencia del 96,3% a clindamicina y la mayor actividad de claritromicina entre los macrólidos estudiados. Ha sido la única especie donde eritromicina ha presentado el mayor porcentaje de resistencia de los cuatro macrólidos estudiados.

Todos los aislados resistentes a ciprofloxacino mostraron resistencia de alto nivel. En el resto de antimicrobianos la resistencia fue de alto y bajo nivel, destacando quinupristina/dalfopristina con predominio de bajo nivel en 12 de 13 cepas resistentes, con CMIs entre 1,5 y 3 $\mu\text{g/mL}$.

En los 23 aislados de *C. jeikeium* (Tabla 56) se observó multirresistencia y de alto nivel frente a 14 de los 17 antimicrobianos estudiados: 100% a macrólidos y clindamicina, $\geq 91,3\%$ a betalactámicos y quinolonas y $\geq 69,3\%$ a gentamicina y rifampicina.

Tabla 56. Concentraciones mínimas inhibitorias ($\mu\text{g/mL}$) de 17 antibióticos frente a 23 aislados de *C. jeikeium* y tasa de resistencia.

Antimicrobiano	Rango	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Resistencia (%)
Penicilina	<0,016 - >256	>256	>256	91,3 ^a
Ampicilina	0,25 - >256	>256	>256	95,6 ^a
Imipenem	0,032 - >32	>32	>32	91,3 ^a
Ertapenem	0,5 - >32	>32	>32	91,3 ^a
Ciprofloxacino	0,094 - >32	>32	>32	95,6 ^a
Moxifloxacino	0,047 - >32	3	>32	91,3 ^b
Gentamicina	<0,016 - >256	>256	>256	78,3 ^a
Rifampicina	<0,016 - >256	32	>256	69,3 ^a
Tetraciclina	0,094 – 24	0,19	0,38	4,3 ^a
Cloranfenicol	1 - >256	2	4	8,7 ^b
Vancomicina	0,19 – 0,75	0,5	0,5	0
Linezolida	0,064 – 0,38	0,19	0,25	0
Eritromicina	>256 - >256	>256	>256	100 ^a
Claritromicina	>256 - >256	>256	>256	100 ^a
Azitromicina	>256 - >256	>256	>256	100 ^a
Clindamicina	>256 - >256	>256	>256	100 ^a
Quinupristina/Dalfopristina	0,094 - >32	1	>32	47,8 ^b

^a Todas las cepas presentaron alto nivel de resistencia. ^b Resistencia de alto y bajo nivel

Solo frente a cloranfenicol, moxifloxacino y quinupristina/dalfopristina la resistencia fue de alto y bajo nivel, predominando de alto nivel en moxifloxacino (19 cepas de 21) y de bajo nivel en quinupristina/dalfopristina (7 cepas de 11). La tasa de resistencia a tetraciclina y cloranfenicol fue $\leq 8,7\%$, y los únicos antibióticos activos en todos los aislados fueron vancomicina y linezolida, con CMI₉₀ de 0,5 y 0,25 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente.

Tabla 57. Concentraciones mínimas inhibitorias ($\mu\text{g/mL}$) de 17 antibióticos frente a 19 aislados de *C. afermentans* subsp. *afermentans* y tasa de resistencia.

Antimicrobiano	Rango	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Resistencia (%)
Penicilina	0,016 - >256	1	32	47,4 ^a
Ampicilina	0,016 - >256	1	8	5,3 ^a
Imipenem	<0,002 – 1,5	0,23	1,5	0
Ertapenem	0,023 – 3	0,5	2	5,3 ^a
Ciprofloxacino	0,032 - >32	0,032	>32	31,6 ^a
Moxifloxacino	0,016 - >32	0,032	>32	31,6 ^b
Gentamicina	<0,016 – 3	0,125	1	0
Rifampicina	<0,016 - >256	0,016	>256	26,3
Tetraciclina	0,023 – 32	0,25	4	10,5 ^b
Cloranfenicol	0,5 – 32	1,5	32	42,1 ^{b, c}
Vancomicina	0,19 – 0,38	0,25	0,38	0
Linezolida	0,047 – 0,19	0,125	0,19	0
Eritromicina	0,125 - >256	>256	>256	94,7 ^a
Claritromicina	0,19 - >256	>256	>256	89,5 ^{b, c}
Azitromicina	24 - >256	>256	>256	100 ^a
Clindamicina	0,125 - >256	>256	>256	94,7 ^a
Quinupristina/Dalfopristina	0,047 - >32	0,5	4	31,6 ^{b, c}

^a Todas las cepas presentaron alto nivel de resistencia. ^b Resistencia de alto y bajo nivel. ^c Predominio de cepas con resistencia de alto nivel frente a cloranfenicol (5 cepas de 8), claritromicina (14 de 17) y quinupristina/dalfopristina (5 de 6).

En el estudio de sensibilidad antibiótica de las 19 aislados de *C. afermentans* subsp. *afermentans* (Tabla 57) destacó el alto porcentaje de resistencia a antibióticos del grupo MLS_B, alcanzando el 100% frente a azitromicina y discreta mayor actividad de claritromicina que eritromicina. Penicilina, con una tasa de resistencia del 47,4%, contrasta con la observada en el resto de betalactámicos ($\leq 5,3\%$).

Los 15 aislados de *C. aurimucosum* (Tabla 58) fueron sensibles a betalactámicos, gentamicina, rifampicina y tetraciclina, además de vancomicina y linezolida. La resistencia a antibióticos del grupo MLS_B alta y casi exclusiva observada en esta especie, destacando, la resistencia a clindamicina en el 80,0% de los aislados, porcentaje superior al de los macrólidos, en el que claritromicina fue el más activo.

Es la quinta especie, en orden de frecuencia, más resistente a quinupristina/dalfopristina. Destacó la baja tasa de resistencia a quinolonas (6,7%) y la resistencia de alto nivel a cloranfenicol (26,7%).

Tabla 58. Concentraciones mínimas inhibitorias (µg/mL) de 17 antibióticos frente a 15 aislados de *C. aurimucosum* y tasa de resistencia.

Antimicrobiano	Rango	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Resistencia (%)
Penicilina	0,064 - 1	0,25	0,5	0
Ampicilina	0,125 - 0,75	0,25	0,5	0
Imipenem	0,016 - 0,094	0,023	0,032	0
Ertapenem	0,125 - 0,5	0,19	0,38	0
Ciprofloxacino	0,002 - >32	0,032	0,5	6,7 ^a
Moxifloxacino	<0,002 - 2	0,016	0,125	6,7 ^a
Gentamicina	<0,016 - 0,125	0,016	0,047	0
Rifampicina	<0,016 - 0,016	<0,016	<0,016	0
Tetraciclina	0,064 - 1,5	0,19	1	0
Cloranfenicol	0,75 - 32	1,5	32	26,7 ^a
Vancomicina	0,25 - 0,75	0,38	0,38	0
Linezolida	0,125 - 0,75	0,25	0,50	0
Eritromicina	<0,016 - >256	>256	>256	66,7 ^b
Claritromicina	<0,016 - >256	6	>256	60,0 ^b
Azitromicina	0,016 - >256	>256	>256	73,3 ^b
Clindamicina	0,5 - >256	>256	>256	80,0 ^b
Quinupristina/Dalfopristina	0,38 - 1,5	0,5	1,5	20,0 ^c

^a Todas las cepas con alto nivel de resistencia. ^b Resistencia de alto y bajo nivel, con predominio de alto nivel. ^c Todas las cepas con bajo nivel de resistencia (CMI de 1,5 µg/ mL)

Se observó multirresistencia en 6 de los 8 aislados estudiados de *C. urealyticum* (Tabla 59). Los dos restantes fueron sensibles a la mayoría de antibióticos con la resistencia focalizada en betalactámicos, quinolonas y cloranfenicol. El betalactámico más activo fue ertapenem. Todos los aislados fueron sensibles a quinupristina/dalfopristina.

Fueron resistentes a macrólidos cinco de los ocho aislados siendo claritromicina el que presentó las CMIs más bajas y azitromicina las más altas.

En contraposición a la multirresistencia descrita en *C. urealyticum* en la Tabla 59, los resultados de las CMIs obtenidos en los ocho aislados identificados como *C. ureicelerivorans*

en la Tabla 60 mostraron un carácter de multisensibilidad: fueron sensibles a 10 de los 17 antibióticos probados. La resistencia antibiótica se focalizó en dos grupos de antibióticos: quinolonas (50%) y MLS_B (87, 5%), con fenotipo constitutivo, destacando la más alta tasa de resistencia a quinupristina/dalfopristina (87,5%) de todos los aislados del género *Corynebacterium* estudiados. Este dato contrasta con el 100% de sensibilidad que se observó en *C. urealyticum*, ambas especies lipófilas con intensa capacidad ureásica.

Tabla 59. Concentraciones mínimas inhibitorias (µg/mL) de 17 antibióticos frente a ocho aislados de *C. urealyticum* y tasa de resistencia.

Antimicrobiano	Rango	Resistencia ^a (%)
Penicilina	>256	100
Ampicilina	>256	100
Imipenem	>32	100
Ertapenem	0,75 - >32	75,0
Ciprofloxacino	>32	100
Moxifloxacino	>32	100
Gentamicina	0,032 - >256	87,5
Rifampicina	<0,016 - 24	37,5
Tetraciclina	0,19 - 32	25,0
Cloranfenicol	>256	100
Vancomicina	0,38 - 1	0
Linezolid	0,125 - 0,25	0
Eritromicina	0,016 - >256	62,5
Claritromicina	<0,016 - >256	62,5
Azitromicina	0,047 - >256	62,5
Clindamicina	0,094 - >256	62,5
Quinupristina/Dalfopristina	0,125 - 1	0

^a Todas las cepas presentaron resistencia de alto nivel.

Tabla 60. Concentraciones mínimas inhibitorias ($\mu\text{g/mL}$) de 17 antibióticos frente a ocho aislados de *C. ureicelerivorans* y tasa de resistencia.

Antimicrobiano	Rango	Resistencia (%)
Penicilina	0,094 - 0,5	0
Ampicilina	0,016 - 0,38	0
Imipenem	0,002 - 0,047	0
Ertapenem	0,094 - 0,5	0
Ciprofloxacino	0,016 - >32	50,0 ^a
Moxifloxacino	0,016 -- >32	50,0 ^a
Gentamicina	<0,016 - 0,5	0
Rifampicina	<0,016 - 0,023	0
Tetraciclina	<0,016 - 1	0
Cloranfenicol	0,38 - 2	0
Vancomicina	0,125 - 0,38	0
Linezolida	0,047 - 0,19	0
Eritromicina	<0,016 - >256	87,5 ^a
Claritromicina	<0,016 - >256	87,5 ^b
Azitromicina	0,032 - >256	87,5 ^a
Clindamicina	0,032 - >256	87,5 ^a
Quinupristina/Dalfopristina	0,19 - >32	87,5 ^c

^a Las cepas presentaron resistencia de alto nivel. ^b Las cepas presentaron resistencia de alto y bajo nivel. ^c Predominio de resistencia de bajo nivel (en cuatro de las siete cepas resistentes)

Tabla 61. Concentraciones mínimas inhibitorias ($\mu\text{g/mL}$) de 17 antibióticos frente a 38 aislados de *Corynebacterium* spp.^a y tasa de resistencia.

Antimicrobiano	Rango	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Resistencia (%)
Penicilina	<0,016 - >256	0,094	24	21,0 ^b
Ampicilina	<0,016 - >256	0,125	>256	15,8 ^b
Imipenem	0,004 - >32	0,023	0,75	7,9 ^c
Ertapenem	0,023 - >32	0,125	2	7,9 ^c
Ciprofloxacino	0,016 - >32	0,064	>32	26,3 ^c
Moxifloxacino	0,008 - >32	0,032	1,5	21,0 ^c
Gentamicina	<0,016 - >256	0,047	3	7,9 ^b
Rifampicina	<0,016 - 0,5	<0,016	0,032	0
Tetraciclina	0,032 - 32	0,25	16	10,5 ^b
Cloranfenicol	0,38 - >256	8	48	44,7 ^c
Vancomicina	0,016 - 1,5	0,38	0,5	0
Linezolida	0,047 - 0,38	0,19	0,25	0
Eritromicina	<0,016 - >256	>256	>256	76,3 ^b
Claritromicina	<0,016 - >256	>256	>256	81,6 ^c
Azitromicina	<0,016 - >256	>256	>256	76,3 ^c
Clindamicina	0,016 - >256	>256	>256	81,6 ^c
Quinupristina/Dalfopristina	0,023 - >32	0,25	2	13,1 ^c

^a *C. appendicis* (2), *C. argentoratense* (1), *C. freneyi* (3), *C. imitans* (4), *C. minutissimum* (4), *C. mucifaciens* (3), *C. propinquum* (2), *C. pseudodiphtheriticum* (2), *C. riegliei* (1), *C. simulans* (4), *C. xerosis* (2), *Corynebacterium* spp. (10).^b Resistencia de alto nivel. ^c Resistencia de alto y bajo nivel.

Los 38 aislados agrupados como *Corynebacterium* spp. (Tabla 61) por el reducido número de cepas identificadas por especie (≤ 4) o solo identificadas a nivel de género (10) fueron sensibles a tres antibióticos: vancomicina, linezolida y rifampicina.

Los porcentajes de resistencia a gentamicina y tetraciclina fueron bajos ($\leq 10, 5\%$), así como a betalactámicos, donde imipenem presentó valores más bajos de CMI que ertapenem a igual tasa de resistencia de ambos carbapenemes.

Destacó la diferencia en la CMI₉₀ y tasa de resistencia entre ambas quinolonas, mostrando mayor actividad moxifloxacino.

Resistencia $\geq 76,3$ % al grupo MLS_B. Es el único grupo de aislados donde claritromicina fue el macrólido que presentó una tasa de resistencia más alta (81,6%) a igualdad de rango, CMI₅₀ y CMI₉₀ entre ellos. Las CMIs de azitromicina fueron iguales o superiores a las de eritromicina y menor número de aislados con CMI $< 0,016$ (seis en eritromicina y uno en azitromicina). Fueron resistentes a quinupristina/dalfopristina cinco aislados, (13,1%) (*Corynebacterium* spp., 5; *C. simulans*, 1).

4.4.2. Actividad *in vitro* de siete antimicrobianos frente a 247 aislados del género *Corynebacterium* determinada por técnica de difusión disco-placa.

Se estudió la sensibilidad a telitromicina, espiramicina, pristinamicina, ácido fusídico, fosfomicina, novobiocina y factor vibriostático O/129 por técnica de difusión disco-placa según se expuso en material y métodos. Todos los aislados fueron resistentes a fosfomicina (halo de inhibición < 6 mm). Los resultados obtenidos con telitromicina, espiramicina, pristinamicina y ácido fusídico se exponen en la Tabla 62.

Tabla 62. Diámetros de inhibición (mm) de cuatro antibióticos frente a 247 aislados del género *Corynebacterium*.

Especies del género <i>Corynebacterium</i> (núm. aislados)	Rango (mm)	Media (mm)	Resistencia (%)
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (19)			
Telitromicina	22 - 50	39,9	0
Espiramicina	6 - 40	9,1	89,5
Pristinamicina	14 - 57	31,8	31,6
Acido fusídico	12 - 38	27,2	21,0
<i>C. amycolatum</i> (76)			
Telitromicina	6 - 50	36,0	3,9 ^a
Espiramicina	6 - 42	14,4	72,4
Pristinamicina	6 - 50	24,6	32,9
Acido fusídico	16 - 36	25,7	9,2
<i>C. aurimucosum</i> (15)			
Telitromicina	6 - 46	30,1	6,7 ^a
Espiramicina	6 - 44	14,9	80
Pristinamicina	6 - 35	21,3	53,3
Acido fusídico	22 - 40	26,1	0
<i>C. coyleae</i> (27)			
Telitromicina	6 - 50	35,2	7,4 ^a
Espiramicina	6 - 34	9,9	38,9
Pristinamicina	6 - 38	20,9	59,2
Acido fusídico	21 - 32	30,2	7,4
<i>C. jeikeium</i> (23)			
Telitromicina	6 - 48	23,5	47,8 ^a
Espiramicina	6	6,0	100
Pristinamicina	6 - 43	22,9	43,5
Acido fusídico	20 - 36	27,9	8,7
<i>C. striatum</i> (33)			
Telitromicina	6 - 56	36,3	15,5 ^b
Espiramicina	6 - 58	21,0	57,8
Pristinamicina	20 - 44	28,7	6,1
Acido fusídico	6 - 32	22,7	21,2
<i>C. urealyticum</i> (8)			
Telitromicina	6 - 52	21,7	62,5 ^a
Espiramicina	6 - 38	19,3	62,5
Pristinamicina	22 - 44	42,0	0
Acido fusídico	22 - 40	47,9	0
<i>C. ureicelerivorans</i> (8)			
Telitromicina	36 - 41	52,1	0
Espiramicina	6 - 44	10,7	87,5
Pristinamicina	6 - 38	19,5	62,5
Acido fusídico	28 - 35	30,6	0
<i>Corynebacterium</i> spp. ^c (38)			
Telitromicina	6 - 60	37,3	10,5 ^a
Espiramicina	6 - 50	16,1	73,7
Pristinamicina	6 - 60	29,5	31,8
Acido fusídico	6 - 34	26,6	5,3

^a Resistencia de alto nivel. ^b Resistencia de alto y bajo nivel. ^c *C. appendicis* (2), *C. argentoratense* (1), *C. freneyi* (3), *C. imitans* (4), *C. minutissimum* (4), *C. mucifaciens* (3), *C. propinquum* (2), *C. pseudodiphtheriticum* (2), *C. riegliei* (1), *C. simulans* (4), *C. xerosis* (2), *Corynebacterium* spp. (10).

Telitromicina fue activa frente a todos los aislados de las especies *C. afermentans* subsp. *afermentans* y *C. ureicelerivorans*. Las mayores tasas de resistencia se observaron en *C. jeikeium* (47, 8%, de alto nivel) y *C. urealyticum* (62,5 %, de alto y bajo nivel).

La resistencia a espiramicina se detectó en todas las especies de *Corynebacterium* estudiadas, con rango entre el 100% observado en *C. jeikeium* a 38,9% en *C. coyleae*.

Pristinamicina, como antes fue referida quinupristina/dalfopristina, fue sensible a todos los aislados de *C. urealyticum* y con tasa muy baja de resistencia en *C. striatum* (6,1%), en contraposición a los más elevados en *C. ureicelerivorans* (62,5%) y *C. jeikeium* (43,5%).

Fueron sensibles a ácido fusídico todos los aislados de *C. aurimucosum*, *C. urealyticum* y *C. ureicelerivorans* y los niveles de resistencia más altos correspondieron a *C. striatum* y *C. afermentans* subsp. *afermentans* (aproximadamente 21%).

En la Tabla 63 se exponen los resultados de sensibilidad a novobiocina en 247 aislados del género *Corynebacterium* mediante técnica de difusión disco-placa según las condiciones descritas en el apartado de material y métodos. No existen puntos de corte establecidos para este antibiótico en estos microorganismos.

Tabla 63. Resultados de sensibilidad a novobiocina en 247 aislados del género *Corynebacterium*, determinada por técnica de difusión disco-placa y medición de los halos de inhibición.

Especies del género <i>Corynebacterium</i>	Núm. aislados estudiados	Rango (mm)	Media (mm)	Núm. aislados con halo ≥ 30 mm (%)
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i>	19	22 - 44	29,3	8 (42,1)
<i>C. amycolatum</i>	76	20 - 40	26,8	21 (27,6)
<i>C. aurimucosum</i>	15	14 - 31	23,0	1 (6,7)
<i>C. coyleae</i>	27	23 - 37	28,2	10 (37,0)
<i>C. jeikeium</i>	23	22 - 38	31,2	17 (73,9)
<i>C. striatum</i>	33	12 - 36	25,7	4 (12,1)
<i>C. urealyticum</i>	8	26 - 36	29,4	3 (37,5)
<i>C. ureicelerivorans</i>	8	30 - 42	37,7	8 (100)
<i>Corynebacterium</i> spp. ^a	38	17 - 43	28,5	14 (36,8)
Total	247	12 - 44	28.9	78 (31,6)

^a *C. appendicis* (2), *C. argentoratense* (1), *C. freneyi* (3), *C. imitans* (4), *C. minutissimum* (4), *C. mucifaciens* (3), *C. propinquum* (2), *C. pseudodiphtheriticum* (2), *C. riegelii* (1), *C. simulans* (4), *C. xerosis* (2), *Corynebacterium* spp. (10).

En el 31,6% de los 247 aislados del género *Corynebacterium* los halos de inhibición del disco de novobiocina (30 µg) fue ≥ 30 mm. El mayor porcentaje se observó en dos especies lipófilas: *C. ureicelerivorans* (100%) y *C. jeikeium* (73,9%), ambas con las medias más altas: 37,7 mm y 31,2 mm respectivamente.

El diámetro menor (12 mm) se obtuvo en un aislado de *C. striatum* y el mayor (44 mm) en un aislado de *C. afermentans* subsp. *afermentans*.

C. aurimucosum fue la especie donde se obtuvo la media más baja (23 mm); solo un aislado presentó un halo con diámetro de 31 mm (6,7%) y en más de la cuarta parte del número de cepas estuvo entre 14 y 18 mm.

En la Tabla 64 se exponen los resultados de sensibilidad de 247 aislados del género *Corynebacterium* al factor vibriostático O/129 mediante técnica de difusión disco-placa según las condiciones descritas en el apartado de material y métodos.

Tabla 64. Sensibilidad de 247 aislados del género *Corynebacterium* al factor vibriostático O/129.

Especies del género <i>Corynebacterium</i>	Núm. aislados estudiados	Rango (mm)	Media (mm)	Núm. aislados resistentes ^a (halo <11 mm) (%)
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i>	19	6 - 28	11,2	13 (68,4)
<i>C. amycolatum</i>	76	6 - 40	7,1	71 (93,4)
<i>C. aurimucosum</i>	15	6 - 32	25,8	1 (6,7)
<i>C. coyleae</i>	27	6 - 42	18,1	12 (44,4)
<i>C. jeikeium</i>	23	6 - 40	27,7	3 (13,0)
<i>C. striatum</i>	33	6 - 40	23,7	3 (9,1)
<i>C. urealyticum</i>	8	6 - 18	8,0	7 (87,5)
<i>C. ureicelerivorans</i>	8	6 - 21	7,9	7 (87,5)
<i>Corynebacterium</i> spp. ^b	38	6 - 34	18,0	23 (60,5)
Total	247	6 - 42	16,4	140 (56,7)

^a Referido en Renaud *et al*, 1998. ^b *C. appendicis* (2), *C. argentoratense* (1), *C. freneyi* (3), *C. imitans* (4), *C. minutissimum* (4), *C. mucifaciens* (3), *C. propinquum* (2), *C. pseudodiphtheriticum* (2), *C. riegelii* (1), *C. simulans* (4), *C. xerosis* (2), *Corynebacterium* sp. (10).

En el 56,7 % de los 247 aislados del género *Corynebacterium* se observó resistencia al disco de factor vibriostático (150 µg).

Cuatro especies fueron generalmente resistentes (>68 %): *C. afermentans* subsp. *afermentans*, *C. amycolatum*, *C. urealyticum* y *C. ureicelerivorans*. En contraposición, tres especies fueron generalmente sensibles ($\geq 87\%$): *C. aurimucosum* (93,3%), *C. jeikeium* (87%) y *C. striatum* (90,9%).

Fueron resistentes todos los aislados identificados como *C. imitans* (4), *C. mucifaciens* (3), *C. propinquum* (2) y *C. pseudodiphtheriticum* (2), así como nueve de los 10 identificados como *Corynebacterium* spp.

Fueron sensibles todos los aislados identificados como *C. appendicis* (2), *C. argentoratense* (1), *C. freneyi* (3) y *C. xerosis* (2).

Los resultados obtenidos con novobiocina y factor vibriostático podrían tener interés, junto a otras pruebas, para la identificación de algunas especies de corinebacterias. *C. ureicelerivorans* y *C. jeikeium* fueron las especies que con mayor frecuencia (100% y 73,9%) mostraron inhibición ≥ 30 mm con el disco de novobiocina. Por otra parte, *C. amycolatum*, *C. ureicelerivorans* y *C. urealyticum* fueron las especies que mostraron una mayor tasa de resistencia al factor vibriostático O/129 (87,5-93,4%).

La Tabla 65 presenta un resumen de las tasas de resistencia de los 247 aislados pertenecientes al género *Corynebacterium* a los 21 antibióticos estudiados excluyendo novobiocina y factor vibriostático O/129.

Los datos comunes a todos ellos han sido la sensibilidad a vancomicina y linezolid y la elevada tasa de resistencia a los antibióticos del grupo MLS_B, siendo ésta la más acentuada y casi única resistencia antibiótica en *C. ureicelerivorans* (8), *C. aurimucosum* (15), *C. afermentans* subsp. *afermentans* (19), *C. coyleae* (27) y *Corynebacterium* spp. (38).

De forma global, *C. aurimucosum*, *C. ureicelerivorans*, *C. coyleae* y *C. afermentans* subsp. *afermentans* fueron las especies más sensibles a los antibióticos. Por el contrario, *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, *C. amycolatum* y *C. striatum* fueron las especies que mostraron resistencia a mayor número de antibióticos. *C. striatum* mostró baja tasa de resistencia a betalactámicos y dos de los ocho aislados de *C. urealyticum* fueron sensibles a la mayoría de los antibióticos.

Tabla 65. Porcentajes de resistencia de 247 aislados del género *Corynebacterium* a 21 antibióticos*.

Antibióticos	Porcentajes de resistencia (núm. de aislados)									
	<i>C. amycolatum</i> (76)	<i>C. striatum</i> (33)	<i>C. coyleae</i> (27)	<i>C. jeikeium</i> (23)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (19)	<i>C. aurimucosum</i> (15)	<i>C. urealyticum</i> (8)	<i>C. ureicelenivorans</i> (8)	<i>Corynebacterium</i> spp. ^a (38)	
Penicilina	84,2	15,1	22,2	91,3	47,4	0	100	0	21,0	
Ampicilina	90,8	3,0	0	95,6	5,3	0	100	0	15,8	
Imipenem	81,6	3,0	0	91,3	0	0	100	0	7,9	
Ertapenem	64,5	6,1	14,8	91,3	5,3	0	75,0	0	7,9	
Ciprofloxacino	61,8	96,7	29,6	95,6	31,6	6,7	100	50,0	26,3	
Moxifloxacino	42,1	96,7	29,6	91,3	31,6	6,7	100	50,0	21,0	
Gentamicina	3,9	36,4	0	78,3	0	0	87,5	0	7,9	
Rifampicina	14,5	87,9	0	69,3	26,3	0	37,5	0	0	
Tetraciclina	53,0	24,2	0	4,3	10,5	0	25,0	0	10,5	
Cloranfenicol	61,8	60,6	25,9	8,7	42,1	26,7	100	0	44,7	
Vancomicina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Linezolida	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Eritromicina	82,9	51,5	92,6	100	94,7	66,7	62,5	87,5	76,3	
Clarithromicina	81,6	45,4	74,1	100	89,5	60,0	62,5	87,5	81,6	
Azitromicina	82,9	63,6	88,9	100	100	73,3	62,5	87,5	76,3	
Clindamicina	75,0	72,7	96,3	100	94,7	80,0	62,5	87,5	81,6	
Quinup./Dalfop.	11,8	9,1	48,1	47,8	31,6	20,0	0	87,5	13,1	
Telitromicina	3,9	15,5	7,4	47,8	0	6,7	62,5	0	10,5	
Espiramicina	72,4	57,8	38,9	100	89,5	80,0	62,5	87,5	73,7	
Pristinamicina	32,9	6,1	59,2	43,5	31,6	53,3	0	62,5	31,8	
Ac. fusídico	9,2	21,2	7,4	8,7	21,0	0	0	0	5,3	

*Se excluyen novobiocina y factor vibriostático 0/129. ^a *C. appendicis* (2), *C. argenteorotense* (1), *C. freneyi* (3), *C. imitans* (4), *C. minutissimum* (4), *C. mucifaciens* (3), *C. propinquum* (2), *C. pseudodiphtheriticum* (2), *C. riegliei* (1), *C. simulans* (4), *C. xerosis* (2), *Corynebacterium* spp. (10). ^b Quinupristina/Dalfopristina

Todos los aislados presentaron tasas elevadas de resistencia a los macrólidos estudiados: eritromicina, claritromicina, azitromicina y espiramicina. La más baja correspondió a *C. striatum* frente a claritromicina (45,4%) y la más alta a *C. jeikeium* con 100% de resistencia a todos ellos. La resistencia a eritromicina fue $\geq 82\%$ en cinco especies: *C. jeikeium*, *C. afermentans* subsp. *afermentans*, *C. coyleae*, *C. ureicelerivorans*, y *C. amycolatum*. La tasa menor se observó en *C. striatum* (51,5%).

Los porcentajes de resistencia a claritromicina fueron inferiores o iguales a los de eritromicina en las ocho especies estudiadas individualmente; la diferencia más marcada se observó en *C. coyleae* donde la resistencia a claritromicina (74,1%) fue mucho más baja que la observada a eritromicina (92,6%). Sin diferencias estadísticamente significativas dado el pequeño tamaño de la muestra (27 aislados).

Por el contrario, en el grupo de los 38 aislados incluidos en el grupo *Corynebacterium* spp., claritromicina fue el macrólido menos activo (81,6% de resistencia). La resistencia a azitromicina fue igual o superior al resto de macrólidos excepto en *C. coyleae*. La tasa de resistencia más alta a espiramicina se observó en *C. aurimucosum* y la más baja en *C. amycolatum*.

La resistencia a clindamicina fue $>80,0\%$ en 5 especies: *C. jeikeium*, *C. coyleae*, *C. afermentans* subsp. *afermentans*, *C. ureicelerivorans* y *C. aurimucosum*. Fue el antibiótico con mayor tasa de resistencia de los 21 estudiados en: *C. coyleae* (96,3%) y *C. aurimucosum* (80,0%).

La concomitancia de mayor porcentaje de resistencia a clindamicina que a macrólidos y claritromicina como macrólido más activo, se observó en tres especies: *C. aurimucosum*, *C. coyleae* y *C. striatum*.

Los porcentajes de resistencia a telitromicina fueron $\geq 47,8\%$ en las especies multirresistentes: *C. urealyticum* y *C. jeikeium*, sin embargo en *C. amycolatum* fue baja (3,9%).

La especie que mostró mayores tasas de resistencia a las estreptograminas estudiadas fue *C. ureicelerivorans*, hecho que contrasta con el 100% de sensibilidad en *C. urealyticum*, ambas especies lipófilas con potente actividad ureásica, la primera, sensible a la mayoría de

antibióticos pero resistente a estreptograminas y la segunda multirresistente pero sensible a estreptograminas.

La resistencia a penicilina fue $\geq 84\%$ en *C. amycolatum*, *C. jeikeium* y *C. urealyticum* y $\geq 90\%$ a la ampicilina en las mismas especies. La actividad de ampicilina fue mayor que la de penicilina en *C. striatum*, *C. coyleae*, *C. afermentans* y *Corynebacterium* spp., con tasas de resistencia comprendidas entre 0 y 15,8%.

No se observó resistencia a los cuatro antibióticos betalactámicos estudiados: penicilina, ampicilina, imipenem y ertapenem, en los microorganismos de las especies *C. aurimucosum* y *C. ureicelerivorans*. La actividad de ertapenem fue superior a imipenem en dos especies multirresistentes: *C. amycolatum* y *C. urealyticum*. Sin embargo, aunque con bajas tasas de resistencia fue más activo imipenem que ertapenem en *C. coyleae*, *C. afermentans* y *C. striatum*. En el resto de aislados no se observó diferencia en el comportamiento entre ambos carbapenemes.

La resistencia a las quinolonas estudiadas, ciprofloxacino y moxifloxacino, fue muy alta, $>95,0\%$, en tres especies: *C. urealyticum*, *C. striatum*, y *C. jeikeium*. Las CMI_s observadas en moxifloxacino han sido de forma constante iguales o menores que las correspondientes a ciprofloxacino (Tablas 53 a 62), aunque la diferencia en la interpretación terapéutica ha sido más marcada en *C. amycolatum* (42,1% vs 61,8%).

La mayor tasa de resistencia a rifampicina se observó en *C. striatum* (87,9%) y *C. jeikeium* (69,3%).

Gentamicina presentó bajas tasas de resistencia en general, excepto en especies multirresistentes como *C. urealyticum* y *C. jeikeium* con tasa $>78\%$. Destacó la baja resistencia observada en *C. amycolatum* (3,9%) otra de las especies multirresistentes.

La tasa más alta de resistencia a tetraciclina se observó en *C. amycolatum* (53,0%) y la de cloranfenicol en *C. urealyticum* (100%); sin embargo, ambas fueron bajas ($<9,0\%$) en *C. jeikeium*, especie multirresistente como las dos anteriormente citadas.

4.4.3. Especies de *Corynebacterium* resistentes a antimicrobianos del grupo MLS_B. Fenotipos y genes de resistencia.

Se estudió el fenotipo y genes de resistencia *erm*(X) y *mef*(A) y *mef*(E) a antibióticos del grupo MLS_B (macrólidos, lincosaminas y estreptograminas del grupo B) en 146 aislados pertenecientes a 11 especies del género *Corynebacterium* según protocolos referidos en el apartado de material y métodos. Las muestras clínicas (81 sangre, 37 catéteres vasculares y 28 muestras no sanguíneas) procedieron de 130 pacientes (33 pediátricos y 97 adultos) no incluyéndose aislados repetidos de un mismo paciente. En la Tabla 66 se exponen los resultados de la sensibilidad de los 130 aislados estudiados a este grupo de antibióticos, por especie, número de pacientes y muestras clínicas.

Tabla 66. Estudio de resistencia a antibióticos del grupo MLS_B en 146 aislados del género *Corynebacterium* procedentes de muestras clínicas de 130 pacientes.

Especies del género <i>Corynebacterium</i>	núm. de aislados	núm. de pacientes	núm. de muestras clínicas			Núm. de aislados resistentes a MLS _B (%)
			Sangre	Catéter vascular	No sanguínea	
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i>	9	8	6	1	2	7 (87,5)
<i>C. amycolatum</i>	71	66	36	24	11	58 (87,9)
<i>C. argentoratense</i>	1	1	1	0	0	1
<i>C. aurimucosum</i>	14	11	7	4	3	9 (81,8)
<i>C. coyleae</i>	14	12	10	0	4	12 (100,0)
<i>C. freneyi</i>	1	1	0	0	1	1
<i>C. imitans</i>	3	3	2	0	1	2
<i>C. minutissimum</i>	4	4	4	0	0	3
<i>C. simulans</i>	2	2	0	0	2	0
<i>C. striatum</i>	25	20	13	8	4	12 (60,0)
<i>C. xerosis</i>	2	2	2	0	0	1
Total	146	130	81	37	28	106 (81,5)

De los 130 aislados estudiados, 24 (18,5%) fueron sensibles a antibióticos del grupo MLS_B y no se detectó gen *erm*(X), *mef*(A) ni *mef*(E). (Figura 13)

En 106 aislados (81,5%) pertenecientes a 10 especies del género *Corynebacterium* se detectó algún fenotipo de resistencia: 93 (87,7%) fenotipo MLS_B, siete (6,6%) fenotipo M y seis (5,7%) fenotipo indeterminado, entendiendo como tal, a la concomitancia de sensibilidad a eritromicina con resistencia a clindamicina. Entre los 106 aislados con fenotipo de resistencia MLS_B hubo 91 (85,8%) en los que se detectó el gen *erm(X)* y ninguno con gen *mef(A)* o *mef(E)*.

Los resultados de fenotipo observado y detección de gen *erm(X)* por especies de *Corynebacterium* se expresan en la Tabla 67.

El fenotipo predominante fue el MLS_B observado en 93 aislados (87,7%). No se detectó el gen *erm(X)* en cinco de los 93 aislados con fenotipo MLS_B (5, 4%) (*C. amycolatum*, 2; *C. striatum*, 1; *C. xerosis*, 1; *C. freneyi*, 1).

Entre los 93 aislados con fenotipo de resistencia MLS_B, 91 (97,8%) fueron constitutivos, cMLS_B, y 2 (2, 2%) inducibles, iMLS_B (*C. amycolatum erm(X)*⁺ y *C. freneyi erm(X)*⁻).

De los 106 aislados con resistencia al grupo MLS_B, 87 (82,1%) presentaron fenotipo constitutivo y se detectó el gen *erm(X)* (cMLS_B / *erm(X)*⁺).

Se detectó resistencia a telitromicina en 11 (8,5%) de los 130 aislados (*C. striatum*, 5; *C. aurimucosum*, 3; *C. amycolatum*, 2; *C. argentoratense*, 1) y todos fueron cMLS_B / *erm(X)*⁺. De los 91 aislados con fenotipo cMLS_B, 76 (83,5%) fueron sensibles a telitromicina. Los siete aislados con fenotipo M (6,6%) correspondieron a seis *C. amycolatum* y un *C. afermentans* subsp. *afermentans*. Ningún gen de resistencia estudiado se detectó en ellos.

En tres de los seis aislados con fenotipo indeterminado se detectó el gen *erm(X)* (Tabla 68). Todos estos aislados fueron sensibles a eritromicina y claritromicina. Sin embargo, dos de ellos fueron resistentes a azitromicina (bajo nivel), dos a quinupristina/dalfopristina y todos a clindamicina (cuatro de bajo y dos de alto nivel). Por técnica de difusión disco-placa, un aislado fue resistente a espiramicina y tres a pristinamicina.

Es de destacar que los dos aislados altamente resistentes a clindamicina (CMI>256 µg/mL) poseían el gen *erm(X)* mientras que solo uno de los cuatro aislados con resistencia intermedia (CMI= 1-2 µg/mL) estaba en posesión de dicho gen.

Tabla 67. Especies de *Corynebacterium* resistentes a antibióticos del grupo MLS_B: fenotipos y gen de resistencia *erm*(X).

Especies (núm.)	Fenotipos MLS _B		
	MLS _B	M	Indeterminado
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (7)			
<i>erm</i> (X)+	6	0	0
<i>erm</i> (X)-	0	1	0
<i>C. amycolatum</i> (58)			
<i>erm</i> (X)+	48*	0	1
<i>erm</i> (X)-	2	6	1
<i>C. argentoratense</i> (1)			
<i>erm</i> (X)+	1	0	0
<i>erm</i> (X)-	0	0	0
<i>C. aurimucosum</i> (9)			
<i>erm</i> (X)+	8	0	1
<i>erm</i> (X)-	0	0	0
<i>C. coyleae</i> (12)			
<i>erm</i> (X)+	10	0	0
<i>erm</i> (X)-	0	0	2
<i>C. freneyi</i> (1)			
<i>erm</i> (X)+	0	0	0
<i>erm</i> (X)-	1*	0	0
<i>C. imitans</i> (2)			
<i>erm</i> (X)+	2	0	0
<i>erm</i> (X)-	0	0	0
<i>C. minutissimum</i> (3)			
<i>erm</i> (X)+	3	0	0
<i>erm</i> (X)-	0	0	0
<i>C. striatum</i> (12)			
<i>erm</i> (X)+	10	0	1
<i>erm</i> (X)-	1	0	0
<i>C. xerosis</i> (1)			
<i>erm</i> (X)+	0	0	0
<i>erm</i> (X)-	1	0	0
Total (106)	93	7	6
<i>erm</i> (X)+	88	0	3
<i>erm</i> (X)-	5	7	3

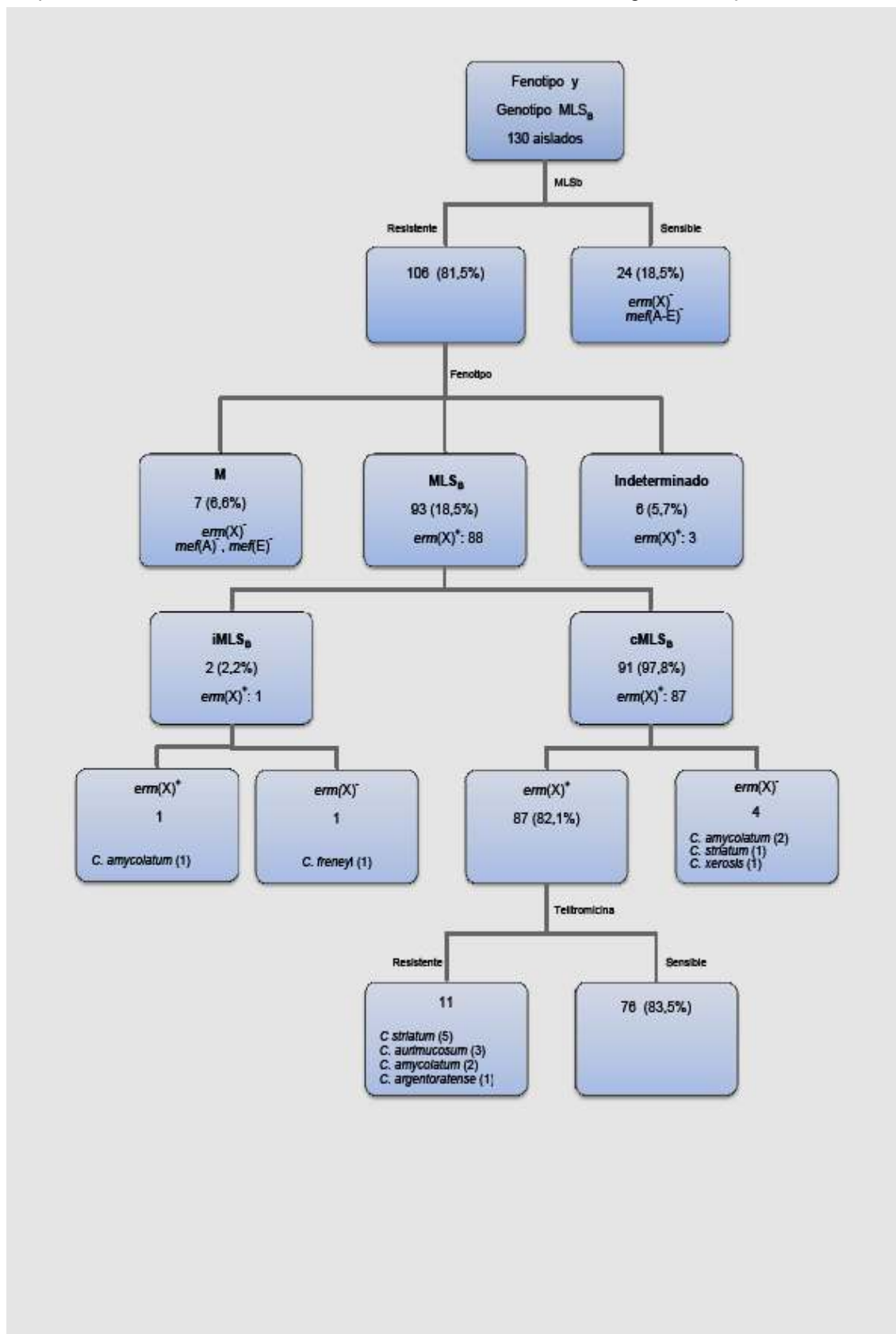
* 1 aislado con fenotipo iMLS_B.

Tabla 68. Fenotipo indeterminado al grupo de antibióticos MLS_B y gen *erm(X)* en seis aislados del género *Corynebacterium*.

Especies del género <i>Corynebacterium</i> (núm.)	Gen <i>erm(X)</i>	CMI (µg/mL)					Diámetro de inhibición (mm)		Tipo de muestra
		ERI	CLA	AZI	CLI	Q/D	ESP	PRI	
<i>C. amycolatum</i> (2)									
Aislado 1	-	0,032	<0,016	0,094	2*	2*	40	16*	OSCDP
Aislado 2 (αGLU+) ^a	+	0,5	0,38	3*	1*	0,094	33	36	Sangre
<i>C. aurimucosum</i> (1)									
	+	0,5	0,125	2*	>256*	0,38	22*	34	Catéter vascular
<i>C. coyleae</i> (2)									
Aislado 1	-	0,016	<0,016	0,032	1,5*	1,5*	34	18*	Sangre
Aislado 2	-	0,016	0,016	0,032	1,5*	1	34	16*	Concen- trado de hematíes
<i>C. striatum</i> (1)									
	+	<0,016	<0,016	0,19	>256*	0,5	23	32	Lesión cutánea

(-) No detectado; (+) Detectado. ERI: eritromicina; CLA: claritromicina; AZI: azitromicina; CLI: clindamicina; Q/D: quinupristina/dalfopristina; PRI: pristinamicina; ESP: espiramicina. * Resistencia de alto o bajo nivel. ^a Productor de α-glucosidasa.

Figura 13. Fenotipos de resistencia a antimicrobianos del grupo MLS_B y genes de resistencia. Esquema de los resultados obtenidos en 130 aislados clínicos del género *Corynebacterium*.



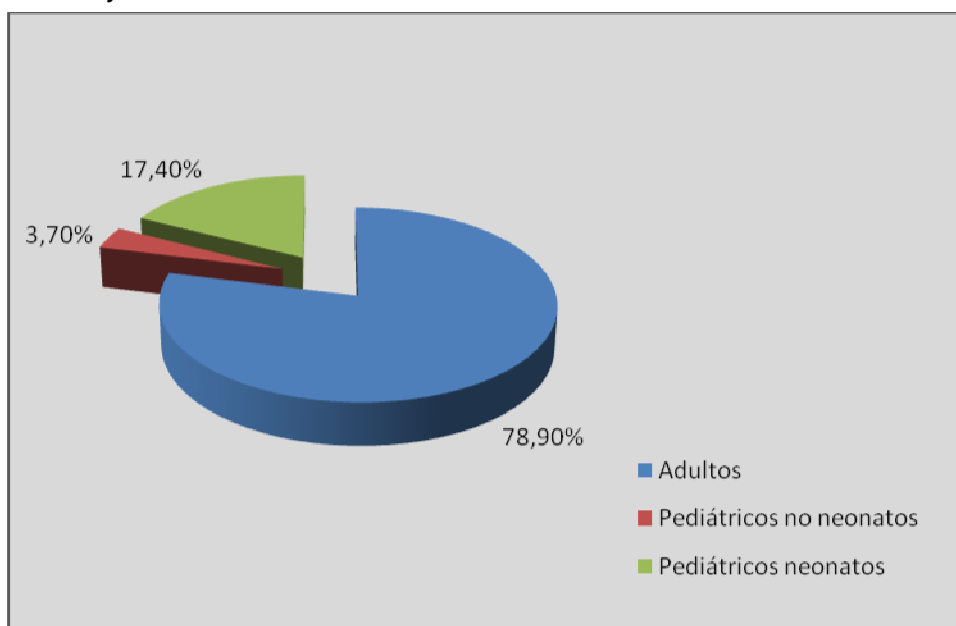
4.5 ESTUDIO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO

4.5.1 Pacientes

Los 300 aislados corineformes estudiados, procedieron de 431 muestras clínicas de 270 pacientes, 221 adultos y 49 pediátricos. Entre estos 300 aislados hubo 53 de organismos (17,6%) no pertenecientes al género *Corynebacterium* procedentes de 86 muestras obtenidas de 53 pacientes, 50 adultos y 3 pediátricos (Tabla 34).

Los 247 aislados del género *Corynebacterium* se recuperaron de 346 muestras clínicas de 218 pacientes hospitalizados, 172 adultos (78,9%) y 46 pediátricos (21,1%), con edad media de 51 años y rango de 0 a 91 años. En la Fig.14 y Tabla 69 se resumen los resultados relativos a estos pacientes en cuanto a edad y sexo.

Figura 14. Distribución por edad de los 218 pacientes donde se recuperaron los 247 aislados del género *Corynebacterium*.



Por lo que se refiere a los 172 adultos, considerados aquellos ≥ 14 años, el rango de edad fue de 16 a 91 con media de 60,9 años. De los 46 pacientes pediátricos, 38 fueron neonatos (82,6%), nueve de ellos prematuros, y ocho no neonatos, con rango de edad entre 2 y 13 con media de 7,1 años. En todos los grupos de edad, predominó el sexo masculino (61,5%).

Tabla 69. Pacientes estudiados atendiendo a su edad y sexo donde se aisló *Corynebacterium* spp.

Grupo de edad	Núm. total de pacientes	Edad (años)		Sexo masculino (%)
		Rango	Media	
Adultos	172	16 - 91	60,9	105 (61,0)
Pediátricos	46	0 – 13	1,2	29 (63,1)
Neonatos	38*	0	0	22 (57,9)
No neonatos	8	2 - 13	7,1	7 (87,5)
Total	218	0 - 91	51,0	134 (61,5)

*Nueve de ellos fueron prematuros

En el análisis estadístico de distribución por especies del género *Corynebacterium* por edad y sexo de los pacientes, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en función de la edad (adulto vs pediátrico) y sexo (masculino vs femenino), con $p: 0,805$, ni tampoco en el grupo pediátrico (neonato vs no neonato) y sexo, con $p: 0,118$.

Los datos de edad y sexo de los pacientes, distribuidos por especies, se resumen en la Tabla 70. En seis pacientes, cuatro adultos y dos pediátricos, se aislaron dos corinebacterias en cultivo mixto en una misma muestra. En todos estos casos estuvo presente *C. amycolatum*. Teniendo en cuenta los 46 pacientes pediátricos, *C. amycolatum* fue, de las 10 especies identificadas en este grupo de edad, la más frecuentemente globalmente (41,3%) y en los 38 neonatos (47,4%). De adultos procedieron los 10 aislados caracterizados como *Corynebacterium* spp. y al menos uno de todas las especies caracterizadas, excepto *C. argentoratense*.

Tabla 70. Edad y sexo de los 218 pacientes donde se recuperaron los 247 aislados del género *Corynebacterium* según especies.

Especies (núm. total de pacientes)	Núm. de pacientes		Edad (años)		Sexo masculino	
	Adultos	Pediátricos	Rango	Media	núm.	%
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (18)	14	4	0 - 84	51,9	9	50,0
<i>C. amycolatum</i> (71) ^{a, b, c, d, e, f}	52	19	0 - 89	44,6	41 ^{a, c, e}	57,7
<i>C. appendicis</i> * (2)	2	0	20 - 77	48,5	2	100
<i>C. argentoratense</i> (1) ^a	0	1	3	3,0	1	100
<i>C. aurimucosum</i> (12) ^b	7	5	0 - 74	26,1	9	75,0
<i>C. coyleae</i> (24) ^c	13	11	0 - 75	34,6	10 ^c	41,7
<i>C. freneyi</i> (3)	2	1	3 - 83	51,0	1	33,3
<i>C. imitans</i> (4)	3	1	3 - 81	59,0	4	100
<i>C. jeikeium</i> * (19)	19	0	24 - 85	55,3	15	78,9
<i>C. minutissimum</i> (4)	2	2	0 - 78	38,0	2	50,0
<i>C. mucifaciens</i> * (3)	3	0	38 - 82	66,3	2	66,7
<i>C. propinquum</i> * (2)	2	0	60 - 65	62,5	2	100
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> * (2)	2	0	70 - 87	78,5	2	100
<i>C. rieglia</i> * (1)	1	0	39	39,0	1	100
<i>C. simulans</i> * (4) ^d	4	0	28 - 74	52,2	2	50,0
<i>C. striatum</i> (28) ^e	25	3	0 - 82	61,0	23 ^e	82,1
<i>C. urealyticum</i> (8)	7	1	9 - 75	58,0	2	25,0
<i>C. ureicelerivorans</i> * (6)	6	0	16 - 70	51,0	4	66,7
<i>C. xerosis</i> * (2)	2	0	70 - 79	74,5	1	50,0
<i>Corynebacterium</i> spp.* (10) ^f	10 ^f	0	26 - 91	69,0	4	40,0
Total (218 ^{a, b, c, d, e, f})	172 ^{b, d, e, f}	46 ^{a, c}	0 - 91	51,0	134 ^{a, c, e}	61,5

^{a, b, c, d, e, f} En seis pacientes (cuatro adultos y dos pediátricos) se aíslan dos corinebacterias en la misma muestra.* Solo en adultos.

Con respecto a la edad de los pacientes, la distribución de las especies identificadas en número ≥ 6 pacientes (≥ 8 aislados), muestra diferencias estadísticamente significativas (p : 0,002), con porcentaje superior al 80% en los pacientes adultos en las especies: *C. jeikeium* (100%), *C. ureicelerivorans* (100%), *C. striatum* (89,3%), *C. urealyticum* (87,5%), mientras que en la edad pediátrica los más frecuentes fueron *C. coyleae* (45,8%), *C. aurimucosum* (41,7%) y *C. amycolatum* (26,8%). Las edades medias extremas se observaron en *C. striatum* (61 años) y *C. aurimucosum* (26,1 años).

Al analizar cada especie en comparación con las demás, se observó un claro predominio de *C. jeikeium* en adultos (p: 0,016; OR: 12,6; IC95%: 0,7-213,3) y de *C. coyleae* en pacientes pediátricos (p: 0,003, OR: 3,7, IC95%: 1,5-8,8). Las otras seis especies no muestran diferencias estadísticamente significativas según la edad.

Con respecto al sexo de los pacientes, la distribución de las especies identificadas en número ≥ 6 pacientes (≥ 8 aislados), muestra diferencias estadísticamente significativas (p: 0,011), con porcentaje superior al 75% en los pacientes varones en las especies: *C. striatum* (82,1%), *C. jeikeium* (78,9%) y *C. aurimucosum* (75%), mientras que en las mujeres el más frecuente es *C. urealyticum* (75%). Al analizar de forma individualizada cada especie, se constató predominio de *C. striatum* en varones (p: 0,011; OR: 3,4; IC95%: 1,3-8,9) y de *C. urealyticum* en mujeres (p: 0,047; OR: 4,1; IC95%: 0,9-18,1). No hay diferencias estadísticamente significativas en las otras especies en función del sexo.

4.5.2 Epidemiología, clínica, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de organismos del género *Corynebacterium*.

En las Tablas 71a-90 se resumen los aspectos epidemiológicos, clínicos, terapéuticos y evolutivos de los pacientes a los que se les aisló un organismo del género *Corynebacterium*.

Los aspectos clínicos de los 46 pacientes pediátricos están recogidos en las Tablas 71b, 72c, 74, 75, 76b, 77, 78, 80, 86a y 87 correspondientes a las 48 corinebacterias de 10 especies que fueron recuperadas de 47 muestras clínicas, 46 de sangre y 1 LCR: *C. afermentans* subsp. *afermentans*, *C. amycolatum*, *C. argentoratense*, *C. aurimucosum*, *C. coyleae*, *C. freneyi*, *C. imitans*, *C. minutissimum*, *C. striatum* y *C. urealyticum* (Tabla 70). Todas fueron fermentativas y no lipófilas a excepción de un aislado de *C. urealyticum*, sin multirresistencia antibiótica y con significación clínica indeterminada, procedente de un niño de 9 años sin antecedentes de interés que ingresó por gastroenteritis aguda que fue tratado con amoxicilina - ácido clavulánico y tuvo buena evolución clínica. Se procesó una muestra por paciente.

Tabla 71a. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium afermentans* subsp. *afermentans* en 18 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo*	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (num.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^a
1	81	M	Adenocarcinoma de recto y vejiga	Absceso perianal Neutropenia febril post-quimioterapia	Sangre (1)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (1)	Drenaje absceso	Tobramicina Metronidazol	Adecuado	Indeterminada	Posible
2	84	F	Diabetes	Tromboembolismo extremidad inferior izquierda. Infección del muñón	Sangre (2)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (2)	Trombectomía Cirugía: Amputación	Ceftazidima Gentamicina	Adecuado	Favorable	Probable
3	66	M	Adenocarcinoma de pulmón con metástasis cerebrales.	Neutropenia febril	Sangre (1)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (1)	Radioterapia	Imipenem	Adecuado	Favorable	Posible
4	65	M	Fibrilación auricular	Infección dispositivo cardíaco: marcapasos	Exudado punto de inserción del marcapasos (1). Contenido de la bolsa del marcapasos (1)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (1) <i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (1)	Implante de marcapasos	Cefazolina	Adecuado	Favorable	Definitivo
5	73	M	Úlcera de decúbito	Infarto subendocárdico. Bacteriemia	Sangre (1)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (1)	Cateterismo cardíaco. Arteriografía coronaria	Vancomicina Imipenem	Adecuado	Indeterminada	Posible
6	76	F	Linfoma Hodgkin	Hemorragia digestiva Reacción febril post transfusional. Catéter colonizado	Catéter vascular (1)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (1) <i>S. haemolyticus</i> MS ^c (1)	Transfusión sanguínea Colonoscopia Biopsia de médula ósea y ganglionar	Teicoplanina Piperacilina/tazobactam	Adecuado	Exitus	Probable
7	76	M	Leucemia mielomonocítica Tratamiento previo: levofloxacino	Neumonía Derrame pleural	Sangre (2) No realizado cultivo de muestras respiratorias	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (2)	Toracocentesis Transfusión de hemáties y plaquetas	Teicoplanina	Adecuado	Exitus	Definitivo
8	84	F	Linfoma Hodgkin	Colecistitis atípica Sepsis	Sangre (3)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (3)	Biopsia ganglionar	Piperacilina/tazobactam	Adecuado	Favorable	Definitivo

Tabla 71b. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium afermentans* subsp. *afermentans* en 18 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
9	57	M	Sin interés	Coledococistitis litiasica	Sangre (1)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (1)		Piperacilina/tazobactam	Adecuado	Favorable	Posible
10	79	F	Adenocarcinoma gástrico. Metástasis hepáticas	Sepsis	Sangre (2)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (2)	Catéter vascular	Imipenem Vancomicina	Adecuado	Indeterminada	Definitivo
11	38	F	Sin interés	Endometritis. Fiebre puerperal	Sangre (1)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (1)	Parto vaginal eutócico	Tobramicina Imipenem	Adecuado	Favorable	Posible
12	45	M	Cirrosis hepática. Alcoholismo	Sepsis	Sangre (2)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (2)		Teicoplanina Piperacilina/tazobactam	Adecuado	Favorable	Definitivo
13	80	F	Diabetes Artritis reumatoidea	Sepsis	Sangre (2)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (2)		Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
14	70	F	Diabetes	ITU ^c no filiada Bacteriemia	Sangre (2)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (2)		Ciprofloxacino	Adecuado	Favorable	Definitivo
15	11	M	Asma bronquial	Neumonía sin filiar	Sangre (1)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (1)		Amoxicilina/ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Posible
16	2	F	Sin interés	Otitis media Faringoamigdalitis	Sangre (1)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (1)		Amoxicilina/ác. clavulánico	Inadecuado	Favorable	Indeterminado
17 y 18	Neonatos (2)	1M 1F	RPM ^d (2): 20 h y 18 h	Policitemia del recién nacido. Prematuridad	Sangre (2)	<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (2)	Parto eutócico (2)	Ampicilina Gentamicina	Adecuado	Favorable	Indeterminado

^a F: femenino, M: masculino; ^b Categoría según criterios descritos en material y métodos; ^c MS: Metiliclin-sensible; ^d ITU: Infección del tracto urinario; ^e RPM: rotura prolongada de membranas;

Tabla 72a. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium amycolatum* en muestras clínicas de 71 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado / inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	84	M	Prevía neumonía sin filar tratada con azitromicina	Hemorragia digestiva. Bacteriemia postquirúrgica BRC ^c	Sangre (2)	<i>C. amycolatum</i> (2)	Esofagoscopia Cirugía	Levofloxacino	Adecuado	Favorable	Definitivo
2	71	M	Neoplasia vejiga	Colitis ulcerosa. Brote. Fiebre	Sangre (3) Catéter vascular (1)	<i>C. amycolatum</i> (3) <i>C. amycolatum</i> (1)	Laparotomía Cirugía. Catéter vascular	Tobramicina Metronidazol	Adecuado	Exitus	Definitivo
3	53	M	Terapia inmunosupresora	Colitis ulcerosa. Brote. Fiebre	Sangre (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)	Colonoscopia	Piperacilina / tazobactam	Adecuado	Favorable	Posible
4	73	M	Anemia aplásica	Osteomielitis	Sangre (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)	Catéter vascular	Teicoplanina	Adecuado	Favorable	Posible
5	40	M	SIDA ^c	BRC ^d Infección fistula hemodialisis	Sangre (3) Catéter vascular (1)	<i>C. amycolatum</i> (3) <i>S. aureus</i> MS (3) <i>C. amycolatum</i> (1) <i>S. aureus</i> MS ^e (1)	Hemodialisis	Vancomicina	Adecuado	Indeterminada	Probable
6	75	M	Diabetes Neoplasia recto	Pie diabético. Infección muñón	Sangre (3)	<i>C. amycolatum</i> (3) SEMR (3)	Cirugía: amputación pie	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Probable
7	62	M	Prótesis cardíaca	Sepsis. Hemorragia intracerebral	Sangre (3)	<i>C. amycolatum</i> (3)	Ventilación mecánica Catéter vascular	Ampicilina Gentamicina	Adecuado	Exitus	Definitivo
8	89	F	Panditopenia	Reacción febril post-transfusión	Sangre (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)	Transfusión sanguínea	Teicoplanina	Adecuado	Favorable	Posible
9	69	M	Diabetes	Isquemia mesentérica. Bacteriemia postquirúrgica	Sangre (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)	Cirugía	Metronidazol Ciprofloxacino	Inadecuado	Favorable	Indeterminado
10	78	M	Artritis reumatoidea. Terapia inmunosupresora	Neumonía	Sangre (2)	<i>C. amycolatum</i> (2)		Levofloxacino	Inadecuado	Exitus	Definitivo

Tabla 72b. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium amycolatum* en muestras clínicas de 71 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado Inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
11	60	F	Leucemia mieloide aguda Quimioterapia	Neutropenia febril postquimioterapia	Sangre (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)	Esplenectomía Catéter vascular	Teicoplanina Amikacina	Adecuado	Favorable	Posible
12	73	F	Mieloma múltiple	BRC ⁹ permanente	Sangre (2)	<i>C. amycolatum</i> (2)	Catéter Hickman	Teicoplanina	Adecuado	Favorable	Definitivo
13	79	M	Adenocarcinoma páncreas	ITU ⁹ sin filar	Sangre (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)		Cotrimoxazol	Inadecuado	Indeterminada	Indeterminado
14	54	M	Insuficiencia renal crónica	Infección fistula de hemodiálisis	Sangre (3)	<i>C. amycolatum</i> (3)	Hemodíalisis	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
15	39	M	Reticulosarcoma Quimioterapia Radioterapia	Neutropenia febril	Sangre (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)	Catéter Hickman	Teicoplanina	Adecuado	Favorable	Posible
16 ¹	59	F	Sarcoidosis Corticoterapia Tratamiento previo con azitromicina	Absceso pulmonar	Sangre (2)	<i>C. amycolatum</i> (2) <i>Corynebacterium</i> sp. (2)	Catéter vascular	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Probable
17 ²	54	M	Artritis reumatoide Terapia inmunosupresora	Sepsis Infección úlcera cutánea vascular	Sangre (2) Lesión cutánea (1)	<i>C. amycolatum</i> (2) <i>C. striatum</i> (2) <i>C. amycolatum</i> (1) <i>C. striatum</i> (1)	Cirugía: amputación pie	Vancomicina Gentamicina	Adecuado	Favorable	Probable
18	23	M	Linfoma de Hodgkin Quimioterapia	Neutropenia febril	Sangre (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)	Catéter Hickman	Teicoplanina	Adecuado	Favorable	Posible
19	72	M	Diabetes	Sepsis Infección de tejidos blandos: pie diabético	Sangre (2) Lesión cutánea (1)	<i>C. amycolatum</i> (2) <i>C. amycolatum</i> (1)		Vancomicina Gentamicina	Adecuado	Favorable	Definitivo

Tabla 72c. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium amycolatum* en muestras clínicas de 71 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado, inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
20	40	F	Sin interés	Fiebre intraparto ITU ^b sin filiar	Sangre (2)*	<i>C. amycolatum</i> (2)		Ampicilina Gentamicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
21	67	F	Valvulopatía cardíaca	Endocarditis infecciosa sobre válvula nativa	Sangre (2)	<i>C. amycolatum</i> (2)	Catéter vascular	Ampicilina Gentamicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
22	50	F	Cirrosis hepática	Sepsis	Sangre (3)	<i>C. amycolatum</i> (3)	Catéter vascular	Piperacilina/tazobactam Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
23 ³	3	M	ITU ^u de repetición. Reflujo vesico-ureteral	ITU ^u sin filiar	Sangre (1)	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>C. argentoratense</i> (1)		Cefixima	Adecuado	Favorable	Posible
24 a 41 ⁴	Neonatos (18)	7 F 11 M	Prematuridad (4) RPM ^b (15): 20-20-21-19-18-18-19-25-26-20-28-24-30-28-18 h Fiebre intraparto (2)	Indeterminado (17) Conjuntivitis (1)	Sangre (18) ⁴ Exudado conjuntival ⁴ (1) CP ¹ (7) Sangre de la madre (1)* Orina de la madre (1)**	<i>C. amycolatum</i> (18) y <i>C. coyleae</i> (1) <i>C. amycolatum</i> (1) y <i>C. coyleae</i> (1) <i>C. amycolatum</i> (7) <i>C. amycolatum</i> (1) <i>C. amycolatum</i> (1)	Parto: eutócico (13) forceps (2) ventosa (2) Cesárea (1)	Ampicilina Gentamicina	Adecuado	Favorable	Indeterminado (8) Definitivo (9) Probable (1)
42	71	M	Neoplasia de vejiga. Metástasis Radioterapia	Insuficiencia renal crónica	Catéter vascular (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> (1)	Laparotomía Cirugía	Tobramicina Metronidazol	Adecuado	Exitus	Posible
43	72	M	Sin interés	Aneurisma abdominal	Catéter vascular (1) Hemocultivo negativo	<i>C. amycolatum</i> (1) SEMR ¹ (1)	Cirugía: by pass	Gentamicina Vancomicina	Adecuado	Favorable	Posible

Tabla 72d. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium amycolatum* en muestras clínicas de 71 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado Inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
44	67	F	Peritonitis Obstrucción intestinal	Colonización catéter nutrición parenteral	Catéter vascular (1) Hemocultivo negativo	<i>C. amycolatum</i> (1)	Cirugía Ventilación mecánica	Amoxicilina/ác. clavulánico	Inadecuado	Favorable	Posible
45	79	F	Neoplasia de colon	Obstrucción intestinal	Catéter vascular (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> (1)	Cirugía	Tobramicina Metronidazol	Adecuado	Favorable	Posible
46	84	F	Neoplasia de colon	Embolismo pulmonar. Peritonitis	Catéter vascular (1) Hemocultivo negativo	<i>C. amycolatum</i> (1)	Cirugía Ventilación mecánica	Imipenem Vancomicina	Adecuado	Exitus	Posible
47	65	F	Diabetes. Tratamiento previo inadecuado con ciprofloxacino	Flebitis. Infección fistula hemodialisis ITU ⁹	Catéter vascular (1) Orina (10 ⁵ UFC/cc) (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>C. amycolatum</i> (1)	Hemodialisis	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
48	68	M	EPOC ⁸	Reagudización	Catéter vascular (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>E. coli</i>	Ventilación mecánica	Vancomicina Cefotaxima	Adecuado	Favorable	Posible
49	75	M	Neoplasia sigma	Flebitis. Infección de catéter vascular ITU ⁹ Infección de herida quirúrgica	Catéter vascular (1) Orina (10 ⁵ UFC/cc) (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>C. glabrata</i> <i>C. amycolatum</i> (1) <i>C. glabrata</i>	Cirugía:resección	Vancomicina Ciprofloxacino	Adecuado	Exitus	Probable
50	52	F	Obesidad mórbida	Infección de catéter vascular Infección herida quirúrgica	Catéter vascular (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>S. maltophilia</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i>	Cirugía Traqueostomía	Vancomicina Imipenem	Adecuado	Exitus	Posible
51	73	M	Prótesis de cadera; infección	Infección de catéter vascular	Catéter vascular (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> <i>E. faecalis</i>	Cirugía; recambio prótesis	Teicoplanina Gentamicina	Adecuado	Favorable	Posible
52	48	M	Linfoma no Hodgkin	Infección de catéter vascular	Catéter vascular (1) Conexión. Hemocultivo negativo	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>A. baumannii</i> (1)	Catéter epidural para quimioterapia intratecal	Amoxicilina/ác. clavulánico	Inadecuado	Exitus	Posible

Tabla 72e. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium amycolatum* en muestras clínicas de 71 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
53	65	F	Isquemia intestinal	Infección quirúrgica	Catéter vascular (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>S. aureus</i> MS, eritromicina-resistente	Cirugía. Catéter epidural para tratamiento del dolor	Amoxicilina	Inadecuado	Exitus	Posible
54	53	M	Hemorragia digestiva. Shock	Infección de catéter vascular	Catéter vascular (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> (1)	Cirugía	Vancomicina Piperacilina/tazobactam	Adecuado	Favorable	Posible
55	54	F	Hemorragia digestiva. Shock	Infección de catéter vascular	Catéter vascular (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>S. lugdunensis</i> (1)	Recambio plasmático Cirugía. resección	Vancomicina Piperacilina/tazobactam	Adecuado	Favorable	Posible
56	71	M	Adenocarcinoma en recto	Infección de catéter vascular	Catéter vascular (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> (1)	Cirugía Radioterapia	Metronidazol Tobramicina	Adecuado	Favorable	Posible
57	76	M	Leucemia linfóide crónica	Infección de catéter vascular	Catéter vascular (1) Hemocultivo negativo	<i>C. amycolatum</i> (1)	Quimioterapia	Telcoplanina	Adecuado	Favorable	Posible
58	82	F	Neoplasia de colon Metástasis	Infección de catéter vascular Peritonitis	Catéter vascular (1) Hemocultivo negativo	<i>C. amycolatum</i> (1)	Cirugía	Vancomicina Imipenem	Adecuado	Favorable	Posible
59	73	M	Neoplasia sigma y vejiga	Infección de catéter vascular	Catéter vascular (1) Hemocultivo negativo	<i>C. amycolatum</i> (1)	Cirugía	Metronidazol Tobramicina	Adecuado	Favorable	Posible
60	16	F	Poli-traumatismo: fractura pelvis.	Infección de catéter vascular	Catéter vascular (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> (1)	Cirugía	Vancomicina Amikacina	Adecuado	Favorable	Posible
61	63	M	Pancreatitis	Colonización de catéter vascular Fístula postquirúrgica.	Catéter vascular (1) Hemocultivo negativo	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>C. albicans</i> (1)	Cirugía	Telcoplanina Imipenem Fluconazol	Adecuado	Exitus	Posible

Tabla 72f. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium amycolatum* en muestras clínicas de 71 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo *	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (número)	Cultivo (número)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico %
62	82	M	Fractura de costillas Broncoaspiración	Infección de catéter vascular	Catéter vascular (1) No hemocultivo	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>E. faecalis</i> (1)		Ampicilina	Adecuado	Favorable	Posible
63	79	M	Neoplasia colon	Infección de catéter vascular	Catéter vascular (1) Hemocultivo negativo	<i>C. amycolatum</i> (1)	Crugía	Vancomicina Metronidazol	Adecuado	Favorable	Posible
64	35	F	Poliquistosis hepato-renal.	Infección catéter diálisis peritoneal	OSCDP ¹ (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)	Diálisis peritoneal	Ciprofloxacino	Adecuado	Favorable	Posible
65	62	F	Insuficiencia renal crónica Hipertensión arterial	Infección catéter diálisis peritoneal	OSCDP ¹ (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)	Diálisis peritoneal	Ciprofloxacino	Adecuado	Favorable	Posible
66 ²	38	F	Poliquistosis hepato-renal.	Peritonitis	Líquido peritoneal (1) OSCDP ¹ (1)	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>C. aurimucosum</i> (1) <i>C. amycolatum</i> (1) <i>C. aurimucosum</i> (1)	Diálisis peritoneal	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Probable
67	16	F	Poliquistosis hepato-renal.	Infección catéter diálisis peritoneal	OSCDP ¹ (1)	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>M. cananense</i> (1)	Diálisis peritoneal	Ciprofloxacino	Adecuado	Favorable	Posible
68	32	F	Poliquistosis hepato-renal.	Infección catéter diálisis peritoneal	OSCDP ¹ (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)	Diálisis peritoneal	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Posible
69	60	F	Insuficiencia renal crónica. Diabetes	Infección catéter diálisis peritoneal	OSCDP ¹ (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)	Diálisis peritoneal	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Posible
70	49	M	Neoplasia pulmón. Radioterapia	Infección fistula bronquial	Lesión cutánea (1)	<i>C. amycolatum</i> (1)	Drenaje bronquial	Vancomicina Cefazidima	Adecuado	Exitus	Posible
71 ³	42	F	Impétigo	Lesiones pustulosas diseminadas	Lesión cutánea (1)	<i>C. amycolatum</i> (1) <i>C. amylans</i> (1)		Clindamicina	Adecuado	Favorable	Posible

* F: femenino, M: masculino; ¹ Categoría según criterios descritos en material y métodos; ² BRC: Bacteriemia relacionada con catéter vascular; ³ SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia humana; MS: metilina-sensible; ⁴ SEMR: S. epidermidis metilina-resistente; ⁵ ITU: infección tracto urinario; ⁶ RPRM: Rotura prolongada de membranas; ⁷ Cp: cultivos peritoneales en neófitos; exudado ático y fúngico, vémix y meconio; ⁸ OSDP: orificio de salida de catéter de diálisis peritoneal; ⁹ EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica; ¹⁰ Cultivo mixto de dos corneobacterias; ¹¹ caso 4 de tabla 90; ¹² caso 13 de tabla 86; ¹³ (caso 1 de tabla 74); ¹⁴ (1 neonato de tabla 75 b); ¹⁵ (caso 2 de tabla 85); ¹⁶ caso 20 de esta Tabla; ¹⁷ Cultivo positivo de orina para *C. amycolatum*, no inoculada en botella de hemocultivo.

Tabla 73. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium appendicis* en muestras clínicas de dos pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado Inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	20	M	Enfermedad de Crohn. Anemia Tratamiento con corticoides e inmunosupresor Tratamiento previo: ciprofloxacino	Fistula en ileon distal Fistula yeyuno-ileal Plastrón en fosa ilíaca derecha.	Sangre (3)	C. appendicis (3)	Colonoscopia. Resección ileocecal	Tobramicina Metronidazol	Adecuado	Favorable	Definitivo
2	77	M	Neoplasia de recto-sigma. Diabetes	Bacteriemia postquirúrgica	Sangre (2)	C. appendicis (2)	Cirugía: resección colon con infección (plastrón) en colostomía postoperatoria	Tobramicina Metronidazol	Adecuado	Favorable	Definitivo

^a F: femenino, M: masculino; ^b Categorías según criterios descritos en material y métodos.

Tabla 74. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium argentoratense* en una muestra clínica de un paciente.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	3	M	ITU de repetición. Reflujo vésico-ureteral	ITU sin fílar	Sangre (1)	C. argentoratense (1) C. amycolatum (1)		Cefixima	Adecuado	Favorable	Posible

^a F: femenino, M: masculino; ^b Categoría según criterios descritos en material y métodos; ^c Cultivo mixto de dos corinebacterias (caso 23 de Tabla 70c).

Tabla 75. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium aurimucosum* en muestras clínicas de 12 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano adecuado	Tratamiento antimicrobiano: adecuado Inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	45	M	Traumatismo de rodilla. Etilismo	Infección articular rodilla	Líquido articular (1)	<i>C. aurimucosum</i> (1)	PAAF	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Posible
2	74	M	Accidente cerebro vascular trombótico	Convulsión febril. IRC ^c (subclavia)	Catéter vascular (1)	<i>C. aurimucosum</i> (1)	Ventilación mecánica Catéter vascular Punción lumbar	Vancomicina Imipenem	Adecuado	Favorable	Posible
3	37	M	Leucemia mieloide aguda. Trasplante de médula ósea	BRC ^a	Sangre (1) Catéter vascular (1)	<i>C. aurimucosum</i> (2) <i>C. aurimucosum</i> (1)	Catéter vascular	Teicoplanina Amikacina	Adecuado	Favorable	Definitivo
4	56	M	Linfoma no Hodgkin Quimioterapia Neoplasia retroperitoneal Hospitalización prolongada (70 d)	IRC ^c . Fiebril	Catéter vascular (2)	<i>C. aurimucosum</i> (2)	Catéter Hickman Toracocentesis Biopsia de médula ósea y renal	Teicoplanina Piperacilina/ tazobactam	Adecuado	Éxito	Definitivo
5	26	F	Obesidad mórbida	Fiebre y derrame pleural post-quirúrgico	Sangre (1)	<i>C. aurimucosum</i> (1)	Cirugía: by-pass biliopancreático Toracocentesis Broncoscopia	Vancomicina Piperacilina/ tazobactam	Adecuado	Favorable	Posible
6 [*]	38	F	Poliquistosis hepato-renal. Insuficiencia renal crónica.	Peritonitis. Infección catéter de diálisis peritoneal	OSCDP (1) Líquido peritoneal (1)	<i>C. aurimucosum</i> (1) <i>C. amycolatum</i> (1) <i>C. aurimucosum</i> (1) <i>C. amycolatum</i> (1)	Diálisis peritoneal	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Probable
7	37	M	Insuficiencia renal crónica hipertenso	Pielonefritis con tratamiento previo inadecuado: ciprofloxacino	Sangre (1)	<i>C. aurimucosum</i> (1)	Hemodíalisis	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Posible
8 a 12	Neonatos (5)	1 F 4 M	RPM ^b (2): 20 - 22 h Fiebre intraparto (2) Prematuridad (1)	Indeterminado	Sangre (5)	<i>C. aurimucosum</i> (1)	Partos eutócicos (5)	Ampicilina y Gentamicina	Adecuado	Favorable	Indeterminado

^a F: femenino, M: masculino; ^b Categoría según criterios descritos en material y métodos; ^c IRC: infección relacionada con catéter; ^d RPM: rotura prolongada de membranas; ^e Cultivo mixto de dos corinebacterias (caso 66 de Tabla 72f).

Tabla 76a. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium coyleae* en muestras clínicas de 24 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo *	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (número)	Cultivo (número)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^a
1	68	F	Necrosis hepática. Ascitis	Sepsis	Sangre (1) Líquido ascítico (1)	<i>C. coyleae</i> (1) <i>C. coyleae</i> (1)	Paracentesis Toracocentesis	Imipenem	Adecuado	Exitus	Definitivo
2	74	F	Linfoma no Hodgkin Quimioterapia intratecal	Sepsis	Sangre (3)	<i>C. coyleae</i> (3)	Catéter epidural Catéter de Hickman Biopsia médula ósea	Teicoplanina	Adecuado	Favorable	Definitivo
3	75	F	Aneurisma abdominal Fístula post-quirúrgica	Sepsis	Sangre (2)	<i>C. coyleae</i> (2)	Prótesis vascular	Vancomicina Tobramicina Metronidazol	Adecuado	Favorable	Definitivo
4	69	F	Linfoma no Hodgkin. Quimioterapia.	Sepsis	Sangre (2)	<i>C. coyleae</i> (2) y <i>S. haemolyticus</i> MS ^c eritromicina-R ^a (1)	Catéter de Hickman	Teicoplanina	Adecuado	Favorable	Probable
5	70	F	Diabetes	Infección de tejidos blandos posttraumática	Hematoma (1) Exudado úlcera vascular (1)	<i>C. coyleae</i> (1) <i>C. coyleae</i> y <i>S. aureus</i> MS ^c eritromicina-R ^a (1)	PAAF ^a	Amoxicilina/ ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Probable
6	32	F	Anemia post-parto.	Reacción febril post-transfusional	Bolsa de concentrado de hematies (1)	<i>C. coyleae</i> (1)	Transfusión sanguínea	Ampicilina	Adecuado	Favorable	Posible
7	61	M	Hemangioma. Insuficiencia renal crónica	Sepsis	Sangre (1)	<i>C. coyleae</i> (1)	Hemodialisis Catéter vascular Punción lumbar	Cefazidima	Adecuado	Favorable	Posible

Tabla 76b. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium coyleae* en muestras clínicas de 24 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (num.)	Cultivo (num.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano; adecuado Inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
8	61	M	Cirrosis hepática	Ascitis. Derrame pleural Hipertensión venosa central	Sangre (1)	C. coyleae (1)	Paracentesis Gastroscopia	Piperacilina / tazobactam	Adecuado	Exitus	Posible
9	68	M	Insuficiencia cardíaca Hipertensión arterial.	Infarto cerebral trombótico. Hemiplejía. Fiebre	Sangre (1)	C. coyleae (1)	Catéter vascular	Amoxicilina/ác. clavulánico	Adecuado	Indeterminada	Indeterminado
10	63	M	Corticoterapia Hiperlipemia	Osteomielitis crónica muslo	Sangre (2)	C. coyleae (2)	Manipulación en cura lesión cutánea	Ciprofloxacino	Adecuado	Favorable	Definitivo
11	75	M	Úlcera de decubito Diabetes	Bacteriemia secundaria a infección de tejidos blandos	Sangre (2)	C. coyleae (2)	Manipulación en cura de lesión cutánea	Ciprofloxacino Clindamicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
12	55	M	Histiocitosis X Diabetes Insípida	Aspergilosis pulmonar Hemoptisis Anemia	Sangre (2)	C. coyleae (2)	Protesis mitral Catéter vascular Biopsia medular	Itraconazol Teicoplanina	Adecuado	Favorable	Definitivo
13	60	F	Peritonitis Infección injertos vasculares	BRC ^c	Sangre (2) Catéter vascular (1)	C. coyleae (2) C. coyleae (1)	Úlcera de decubito. Traqueotomía	Imipenem Amikacina	Adecuado	Exitus	Definitivo
14 8 24*	Neonatos (11)	7 F 4 M	RPM ^d (8): 12-16-18-20-20-21-22-24 h. Prematuros (3)	Indeterminado	Sangre (11)	C. coyleae (11) C. amycolatum (1)*	Parto: venotomía (2) fórceps (2) estúfido (7)	Ampicilina Gentamicina	Adecuado	Favorable	Indeterminado (10) Probable (1)

^aF: femenino, M: masculino. ^bCategoría según criterios descritos en material y métodos. ^cResistente. ^dMecillin-sensible. ^eBRC: Bacteriemia relacionada con catéter. ^fRotura prematura de membranas. ^gPAAP: Punción aspiración aguja fina. * Cultivo mixto de 2 corynebacterias en bacteriemia y conjuntivitis neonatal por C. amycolatum y C. coyleae (Tabla 72c)

Tabla 77. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium freneyi* en muestras clínicas de tres pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^d
1	3	M	Inmunodeficiencia leve Hipocrecimiento	Neumonía LII Fiebre, Distress respiratorio tipo II	Sangre (1)	<i>C. freneyi</i> (1)		Amoxicilina/ ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Indeterminado
2	67	F	Hipercolesterolemia Hipertensión arterial	Conjuntivitis ^a Lesión cutánea eritemato-descamativa en cara, cuello y cuero cabelludo: sospecha de neoplasia o infección fúngica.	Lesión cutánea (1) Histología: Paraqueratosis espongiosis y	<i>C. freneyi</i> (1)	Biopsia de lesión cutánea. Exéresis completa	Amoxicilina/ ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Posible
3	83	F	Cardiopatía isquémica. Marcapaso Prótesis de cadera	Lesiones cutáneas ulceradas descamativas pruriginosas en zona púbica, perianal y vulvar: sospecha de neoplasia.	Lesión cutánea (1) Histología: Hiperplasia pseudoepiteliomatosa adyacente	<i>C. freneyi</i> (1)	Biopsia de lesión cutánea.	Ciprofloxacino	Adecuado	Favorable	Indeterminado

^a F: femenino, M: masculino; ^b Categoría según criterios descritos en material y métodos; ^c LI: lóbulo inferior izquierdo. ^d Exudado conjuntival fue positivo a *C. freneyi* pero no se inoculó en botella de hemocultivo.

Tabla 78. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium imitans* en muestras clínicas de cuatro pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo *	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (número)	Cultivo (número)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado Inadecuado	Evolución	Significado clínico ²
1	81	M	Diabetes	Fiebre, Insuficiencia respiratoria aguda	Sangre (2)	C. imitans (2)	Catéter vascular	Levofloxacino	Adecuado	Favorable	Definitivo
2	79	M	Mixomas auriculares	Endocarditis infecciosa aguda	Sangre (2)	C. imitans (2)	Ecocardiografía transesofágica	Vancomicina Gentamicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
3	3	M	Varicela previa	ACV ³ Hemiplejía derecha	LCR ⁴ (1)	C. imitans (1)	Punción lumbar traumática	Ampicilina Cefotaxima	Adecuado	Favorable	Indeterminado
4	73	M	Sin interfe	Orquepididimitis	Sangre (2)	C. imitans (2)	Exploración urológica. Masaje prostático	Ofloxacino	Adecuado	Favorable	Definitivo

* F: femenino, M: masculino; ³ Categoría según criterios descritos en material y métodos; ⁴ ACV: Accidente cerebrovascular; ⁵ LCR: Líquido cefalorraquídeo.

Tabla 79a. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium jeikeium* en muestras clínicas de 19 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento Antimicrobiano: adecuado Inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	46	M	SIDA ^c Infección por VHC ^d	Neumonía por <i>P. carinii</i> Candidiasis oral	Sangre (1)	<i>C. jeikeium</i> (1)	Lavado broncoalveolar Catéter vascular	Cotrimoxazol Fluconazol	Inadecuado	Favorable	Indeterminado
2	38	F	Liposarcoma abdominal Quimioterapia	Neutropenia febril BRC	Sangre (2)	<i>C. jeikeium</i> (3)	Cirugía Catéter vascular	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
3	85	M	SIDA ^c Linfoma no Hodgkin	BRC ^e Fiebre tras manipulación catéter	Sangre (3) Catéter vascular (1)	<i>C. jeikeium</i> (2) <i>C. jeikeium</i> (1)	Catéter vascular	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
4	24	M	Leucemia mieloide agudo Quimioterapia	Neutropenia febril post-quimioterapia	Sangre (1) Sangre (1)	<i>C. jeikeium</i> (1) <i>C. jeikeium</i> (1)	Catéter vascular	Teicoplanina	Adecuado	Favorable	Definitivo
5	51	M	Traumatismo craneoencefálico cerrado. Etilismo crónico Hospitalización prolongada (45 días)	Sepsis	Sangre (2)	<i>C. jeikeium</i> (2)	Cirugía Catéter vascular Ventilación mecánica	Vancomicina y cefotaxima	Adecuado	Favorable	Definitivo
6	65	F	Fibrilación auricular	ACV ^f ; Embolia cerebral	Sangre (2)	<i>C. jeikeium</i> (2)	Catéter vascular	Vancomicina	Adecuado	Indeterminada	Definitivo
7	71	M	Linfoma no Hodgkin Hospitalización prolongada (30 días)	Sepsis	Sangre (2)	<i>C. jeikeium</i> (2)	PAAF ^h pulmonar	Ceftazidima Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
8	42	M	Insuficiencia renal crónica	ACV ^f ; Hemorragia cerebral	Sangre (2)	<i>C. jeikeium</i> (2)	Cirugía Hemodialisis Traqueostomía	Teicoplanina Ceftazidima	Adecuado	Exitus	Definitivo
9	62	M	Trasplante cardíaco Terapia inmunosupresora	Embolismo pulmonar	Sangre (2)	<i>C. jeikeium</i> (2)		Vancomicina Ceftazidima	Adecuado	Favorable	Definitivo
10	69	F	Trasplante renal Terapia inmunosupresora	IRC ^g	Catéter vascular (1)	<i>C. jeikeium</i> (1)		Gentamicina Vancomicina	Adecuado	Exitus	Definitivo

^a F: femenino, M: masculino; ^b Categoría según criterios descritos en material y métodos; ^c SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida; ^d VHC: virus hepatitis C; ^e Bacteriemia relacionada con catéter; ^f ACV: accidente cerebro-vascular; ^g IRC: infección relacionada con catéter; ^h PAAF: punción aspiración con aguja fina; ⁱ FOI: Fiebre de origen indeterminado

Tabla 79b. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium jeikeium* en muestras clínicas de 19 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo*	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
11	68	M	Hernia inguinal. Anticoagulación	Hematoma escrotal post-quirúrgico infectado. Anemia	Sangre (2)	C. jeikeium (2)	Crugía PAAF ^h . Drenaje. Trasfusión sanguínea.	Ciprofloxacino	Adecuado	Favorable	Definitivo
12	35	M	Neumonía. Tratamiento previo: levofloxacino (R)	Sepsis IRC ^g	Sangre (2)	C. jeikeium (2)	Catéter vascular	Cefazidima. Linezolid	Adecuada	Favorable	Definitivo
13	39	M	SIDA ^f . Linfoma no Hodgkin. Quimioterapia. Tratamiento antibiótico inadecuado: ciprofloxacino	Neutropenia febril BRC ^h permanente	Sangre (2)	C. jeikeium (2)	Catéter Hickman	Vancomicina	Adecuada	Favorable	Definitivo
14	31	M	Linfoma de Hodgkin.	Neutropenia febril BRC ^h permanente	Sangre (2)	C. jeikeium (2)	Biopsia ganglionar y médula ósea. Catéter Hickman	Telcoplanina	Adecuada	Favorable	Definitivo
15	75	F	Diabetes. Insuficiencia renal crónica.	Infección catéter. diálisis peritoneal	OSCDP (1)	C. jeikeium (1)	Diálisis peritoneal	Vancomicina	Adecuada	Favorable	Posible
16	72	M	Crugía cardíaca: válvula mitral protésica. Tratamiento previo inadecuado: ampicilina y gentamicina.	Endocarditis infecciosa aguda	Sangre (2)	C. jeikeium (2)	Ecocardiograma transesofágico	Vancomicina	Adecuada	Favorable	Definitivo
17	56	M	Leucemia mieloide aguda. Tratamiento antibiótico inadecuado: cefazidima.	BRC ^h permanente. Neutropenia febril post quimioterapia	Sangre (2). Sangre (3)	C. jeikeium (2). C. jeikeium (3)	Catéter Hickman	Vancomicina	Adecuada	Favorable	Definitivo
18	62	M	Leucemia mieloide aguda. Lupus eritematoso diseminado. Quimioterapia.	Neutropenia febril BRC ^h permanente	Sangre (2)	C. jeikeium (2)	Catéter Hickman	Linezolid	Adecuada	Favorable	Definitivo
19	59	M	Escoliosis toracogénica. Insuficiencia respiratoria crónica.	Valvulopatía aórtica, cor pulmonale, FOI ⁱ	Sangre (1)	C. jeikeium (1)	Cateterismo cardíaco	Vancomicina. Gentamicina	Adecuada	Favorable	Posible

*F: femenino, M: masculino; ^aCategoría según criterios descritos en material y métodos; ^bSIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida; ^cVHC: virus hepatitis C; ^dBRC: Bacteriemia relacionada con catéter; ^eACV: accidente cerebro-vascular; ^fIRC: infección relacionada con catéter; ^gPAAF: punción aspiración con aguja fina; ^hFOI: Fiebre de origen indeterminado.

Tabla 80. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium minutissimum* en muestras clínicas de cuatro pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (nº)	Cultivo (nº)	Maniplación	Tratamiento antimicrobiano adecuado	Tratamiento antimicrobiano inadecuado	Evolución	Significado clínico ^a
1	78	F	Linfoma no Hodgkin Quimioterapia Tuberculosis antigua Mecapaso	Neutropenia febril	Sangre (1)	<i>C. minutissimum</i> (1)	Celéter Hickman	Piperacilina/tazobactam Telicoplanina	Adecuado	Favorable	Posible
2	74	F	Fibrilación auricular Hipertensión arterial	Linfoma vesical Divertículo esofágico	Sangre (1)	<i>C. minutissimum</i> (1)	Esófagoscopia	Piperacilina/tazobactam	Inadecuado	Favorable	Indeterminado
3 y 4	Neonatos	M	RPM ^b (2): 18 y 20 fl. ITU ^c (1)materna no filiada (caso 4)	Indeterminado	Sangre (2)	<i>C. minutissimum</i> (1)	Parto eutócico (2)	Ampicilina Gentamicina	Adecuado	Favorable	Indeterminado

^a F: femenino, M: masculino; ^b Categorías según criterios descritos en material y métodos; ^c RPM: Rotor prolongada de membranas; ^d ITU: infección del tracto urinario.

Tabla 81. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium mucifaciens* en muestras clínicas de tres pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (número)	Cultivo (número)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	38	F	Diabetes	Neumonía adquirida en la comunidad	Sangre (1)	C. mucifaciens (1)	Catéter vascular	Levofloxacino	Adecuado	Favorable	Posible
2	79	M	Neumocistosis Cirrosis hepática Etiemo. Neoplasia maligna no localizada	Reagudización Infección respiratoria Pólipo cuerda vocal	Sangre (2)	C. mucifaciens (2)	Catéter vascular	Amoxicilina/ ác. clavulánico	Adecuado	Exitus	Definitivo
3	2	M	Neumocistosis	Reagudización infección respiratoria	Sangre (2)	C. mucifaciens (2)	Catéter vascular	Amoxicilina/ ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Definitivo

^aF: femenino, M: masculino. ^bCategorías según criterios descriptos en material y métodos.

Tabla 82. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium propinquum* en muestras clínicas de dos pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (número)	Cultivo (número)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	60	M	Sarcoma sinovial Quimioterapia	Neutropenia febril	Sangre (1)	C. propinquum (1)	Catéter vascular	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Posible
2	65	M	Diabetes	Adenocarcinoma de próstata	Catéter vascular (1)	C. propinquum (3)	Cirugía	Ciprofloxacino	Adecuado	Favorable	Definitivo

^aF: femenino, M: masculino. ^bCategoría según criterios descriptos en material y métodos.

Tabla 83. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* en muestras clínicas de dos pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo *	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (número)	Cultivo (número)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	87	M	Úlcera cutánea tóxica en miembro inferior izquierdo.	Leucemia infecciosa crónica. Pólipos en colon	Sangre (2)	C. pseudodiphtheriticum (2)	Colonoscopia con resección de pólipos	Amoxicilina/ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Definitivo
2	70	M	Adenocarcinoma de colon metastático en hígado	Absceso hepático postoperatorio	Sangre (3)	C. pseudodiphtheriticum (3)	Cirugía PAAF ^c hepática	Piperacilina/tazobactam	Adecuado	Favorable	Definitivo

* F: femenino, M: masculino; ^a Categoría según criterios descritos en material y métodos; ^c PAAF: punción aspiración con aguja fina.

Tabla 84. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium negeli* en una muestra clínica de un paciente.

Caso	Edad (años)	Sexo *	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (número)	Cultivo (número)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	39	M	Neoplasia de pulmón. Hemocromatosis. Radioterapia	BRC ^c permanente	Sangre (2)	C. negeli (2)	Catéter Hickman	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo

* F: femenino, M: masculino; ^a Categoría según criterios descritos en material y métodos; ^b BRC: bacteriemia relacionada con catéter

Tabla 85. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium simulans* en muestras clínicas de cuatro pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	67	F	Traumatismo abdominal	Hematoma hepático	Hematoma hepático (1)	<i>C. simulans</i> (1)	PAAF ^c de hematoma post-traumático.	Piperacilina/tazobactam	Adecuado	Favorable	Posible
2*	40	F	Impétigo	Lesiones cutáneas pustulosas	Lesión cutánea (1)	<i>C. simulans</i> (1) <i>C. amycolatum</i> (1)		Amoxicilina/ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Posible
3	28	M	Dermatitis atópica	Lesiones cutáneas eritemato-descamativas Fiebre	Sangre (2)	<i>C. simulans</i> (2)		Amoxicilina/ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Definitivo
4	74	M	Carcinoma epidermoide de base de lengua	Sialoadenitis postoperatoria	Sangre (2)	<i>C. simulans</i> (2)	Cirugía. Catéter de nutrición parenteral. Radioterapia.	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo

^a F: femenino, M: masculino; ^b Categoría según criterios descritos en material y métodos; ^c PAAF: punción aspiración con aguja fina; * Cultivo mixto de dos corinebacterias (caso 66 de Tabla 70c)

Tabla 86a. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium striatum* en muestras clínicas de 28 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo *	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (número)	Cultivo (número)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico *
1	65	M	Quimioterapia Melanoma múltiple	Neutropenia febril BRC * permanente	Sangre (2)	C. striatum (2) SEMS * (2)	Catéter Hickman	Adecuado	Favorable	Probable
2	65	M	Neoplasia gástrica. Metástasis hepáticas Quimioterapia	Neutropenia febril	Sangre (3)	C. striatum (3)	Catéter vascular	Adecuado	Favorable	Definitivo
3	65	F	Insuficiencia renal crónica. Glomerulonefritis proliferante Tratamiento previo inadecuado. Ciprofloxacino	Infección fístula hemodialisis	Sangre (1)	C. striatum (1)	Hemodialisis	Adecuado	Favorable	Posible
4	76	M	Linfoma de Hodgkin	Neutropenia febril Úlcera de esófago	Sangre (1)	C. striatum (1)	Esófagoscopia	Adecuado	Favorable	Posible
5	68	M	Hepatocarcinoma Quimioterapia	Neutropenia febril	Sangre (1)	C. striatum (1)	PAAF hepática	Adecuado	Favorable	Posible
6	79	F	Infarto cerebral Edema agudo de pulmón	Sepsis	Sangre (2)	C. striatum (2)	Catéter vascular. Ventilación mecánica	Adecuado	Indeterminad ^a	Definitivo
7	66	M	Neoplasia pulmón Radioterapia	Neutropenia febril	Sangre (1)	C. striatum (1)	Catéter vascular	Adecuado	Favorable	Posible
8	Neonato	M	Embarazo no controlado, a término	Ictericia Malformación auricular	Sangre (1)	C. striatum (1)	Parto eutócico	Adecuado	Favorable	Indeterminado
9	70	F	Linfoma no Hodgkin Diabetes descompensada Quimioterapia intratecal	Neutropenia febril. BRC * permanente Colonización catéter epidural	Sangre (3) Catéter epidural (1)	C. striatum (3) C. striatum (1)	Catéter Hickman. Catéter epidural	Adecuado	Favorable	Probable

Tabla 86b. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium striatum* en muestras clínicas de 28 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo*	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (número)	Cultivo (número)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico*
10	75	M	Insuficiencia renal crónica Pneumonía EPOC [†] reagudizado	Pericarditis Brote de porfiria Aftas bucales BRC ⁺ Neumonía nosocomial	Sangre (3)	<i>C. striatum</i> (3)	Hemodiálisis Biopsia de lesión cutánea	Vancomicina Gentamicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
11	60	M	EPOC [†] reagudizado	BRC ⁺ Neumonía nosocomial	Sangre (3) Catéter vascular (1) Esputo [‡] (1)	<i>C. striatum</i> (3) <i>P. aeruginosa</i> (3) <i>C. striatum</i> (1) <i>C. striatum</i> (1) <i>P. aeruginosa</i> (3)		Vancomicina Imipenem	Adecuado	Favorable	Probable
12	82	M	Pericarditis. Angedias de hipersensibilidad	Infección úlceras cutáneas vasculares Hemorragia intraalveolar y rectal	Sangre (2)	<i>C. striatum</i> (2)	Transfusión sanguínea	Coltrimoxazol	Inadecuado	Exitus a las 24 h del ingreso	Definitivo
13*	54	M	Artritis reumatoide. Terapia inmunosupresora	Sepsis Infección partes blandas: úlcera vascular tobillo	Sangre (2) Lesión cutánea (1)	<i>C. striatum</i> (2) <i>C. amycolatum</i> (2) <i>C. striatum</i> (1) <i>C. amycolatum</i> (1)	Cirugía: amputación pie	Vancomicina Gentamicina	Adecuado	Favorable	Probable
14	76	M	Insuficiencia renal crónica	BRC ⁺ permanente	Sangre (3) Catéter vascular (1)	<i>C. striatum</i> (3) <i>C. striatum</i> (1)	Hemodiálisis Catéter Hickman	Vancomicina Cefepima	Adecuado	Favorable	Definitivo
15	89	M	EPOC [†]	Sepsis	Sangre (3)	<i>C. striatum</i> (3)		Levofloxacino	Inadecuado	Exitus	Definitivo
16	26	M	Leucemia mieloide aguda. Insuficiencia renal aguda por quimioterapia. Hospitalización prolongada	Neutropenia febril BRC ⁺ permanente	Sangre (3)	<i>C. striatum</i> (3)	Hemodiálisis Catéter Hickman	Cefazolina Piperacilina/azobactam	Adecuado	Favorable	Definitivo
17	13	M	Sin interés	Infección de tejidos blandos: absceso en antebrazo	Sangre (1) Lesión cutánea [§] (1)	<i>C. striatum</i> (1) <i>C. striatum</i> (1)		Cefotaxima	Adecuado	Favorable	Posible

Tabla 86c. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium striatum* en muestras clínicas de 28 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo *	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano adecuado	Evolución	Significado clínico *
18	74	M	Neoplasia bronquial Diabetes	Sepsis Neumonía	Sangre (2)	C. striatum (2)		Imipenem Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
19	13	M	Fractura abierta de cráneo	Sepsis	Sangre (2)	C. striatum (2)	Cirugía Ventilación mecánica Catéter vascular	Imipenem Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
20	62	M	Mieloma múltiple Amiloidosis	Sepsis	Sangre (1) Orina (1)	C. striatum (1) C. striatum (1)	Sondaje vesical	Cefazidima	Adecuado	Favorable	Definitivo
21	86	M	Neoplasia vesiga. Tratamiento previo inadecuado: ciprofloxacino	IRC ¹ , Fiebril	Catéter vascular (1) Exudado punto inserción (1)	C. striatum (1) C. striatum (1)	Cirugía Catéter vascular	Vancomicina	Adecuado	Éxito	Definitivo
22	45	F	Meningioma	Colonización del catéter vascular	Catéter vascular (1)	C. striatum (1)	Cirugía Catéter vascular	Cefazidima	Adecuado	Favorable	Posible
23	72	M	Neoplasia esófago	IRC ¹	Catéter vascular (1)	C. striatum (1)	Cirugía Catéter epidural	Amoxicilina / ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Posible
24	75	M	Neoplasia de colon	IRC ¹	Catéter vascular (1)	C. striatum (1)	Cirugía	Melitonidazol Tobramicina	Adecuado	Favorable	Posible
25	67	M	Neoplasia colon	IRC ¹	Catéter vascular (1)	C. striatum (1)	Cirugía	Imipenem Tobramicina	Adecuado	Favorable	Posible
26	79	M	Artritis reumatoide Terapia inmunosupresora Hospitalización prolongada: 60 días	Bursitis hombro IRC ¹	Líquido articular (1) Catéter vascular (1)	C. striatum (1) C. striatum (1)	PAUF ² articular	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
27	79	F	Pielonefritis crónica	Peritonitis	Líquido peritoneal (1)	C. striatum (1)	Dilatación peritoneal	Cefazidima	Adecuado	Favorable	Posible
28	88	M	Diabetes	Infección de piel diabética	Lesión cutánea: exudado muña	C. striatum (1) SAMR ¹	Cirugía: amputación	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Posible

* F: femenino, M: masculino; * Categoría: según criterios descritos en material y métodos; * BRC: Bacteriemia relacionada con catéter; * SEMS: S. epidermidis metilicín-sensible; * Muestra positiva a C. striatum no inoculada en botella de hemocultivo; * EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; * IRC: infección relacionada con catéter; * PAUF: Punción aspiración con aguja fina; * SAMR: S. aureus metilicín-resistente; * Cultivo mixto de 2 corynebacterias (caso 17 de Tabla 70b)

Tabla 87. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium urealyticum* en muestras clínicas de ocho pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	9	M	Sin interres	Gastroenteritis aguda	Sangre (1)	C. urealyticum (1)		Amoxicilina/clavulánico	Adecuado	Favorable	Indeterminado
2	67	F	Diverticulitis en colon	Sepsis intestinal post-quirúrgica	Sangre (2)	C. urealyticum (2)	Colonoscopia Sigmoidectomía Catéter vascular	Imipenem Tobramicina	Inadecuado	Exitus	Definitivo
3	65	F	ICC ^c valvular. Obesidad. Prótesis de cadera. Tratamiento previo inadecuado con ampicilina.	EPOC ^d reagudizada.	Sangre (2)	C. urealyticum (2)	Catéter vascular	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
4	57	F	Obesidad mórbida. Diabetes	EPOC ^d reagudizada. ITU ^e	Catéter vascular (1)	C. urealyticum (1)	Cirugía Catéter vascular Traqueostomía Ventilación mecánica	Imipenem Amikacina	Inadecuado	Exitus	Definitivo
5	75	F	Diabetes. Trombosis venosa en pierna izquierda. Tratamiento previo inadecuado con ciprofloxacino.	Embolismo. Infección de pie diabético	Orina ^f (10 ⁵ UFC/col) (1) Sangre (2)	C. urealyticum (2) C. urealyticum (1)	By pass. Embolectomía Amputación dedos mano	Gentamicina Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
6	48	F	Trombocitopenia plasmática primaria	Fiebre plesimofrénica. Flebitis	Catéter vascular (1)	C. urealyticum (1)	Plasmaféresis	Telaprevina	Adecuado	Favorable	Posible
7	69	M	Tuberculosis pulmonar antigua y Colobocistosis	Bacteriemia. ITU ^e	Sangre (1) Orina ^f (10 ⁵ UFC/col) (1)	C. urealyticum (1) C. urealyticum (1)	Catéter vascular	Ciprofloxacino	Adecuado	Favorable	Definitiva
8	74	F	Diabetes	Fractura columna lumbar. Fiebre postoperatoria	Sangre (3)	C. urealyticum (3)	Cirugía Sonda uretral Catéter vascular	Piperacilina/tazobactam Amikacina Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo

^a F: femenino, M: masculino; ^b Categorías según criterios descritos en la sección de material y métodos; ^c ICC: Insuficiencia cardíaca congestiva; ^d EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica; ^e ITU: Infección del tracto urinario; ^f SAMR: S. aureus metilina-resistente; ^g Muestra positiva a C. urealyticum no inoculada en botella de hemocultivo

Tabla 88. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium ureiceleivorans* en muestras clínicas de seis pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo *	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento Antimicrobiano adecuado	Evolución	Significado clínico ^a
1	64	M	Diabetes Neoplasia de recto	Absceso perineal. Fístula persistente postoperatoria	Sangre (2)	C. ureiceleivorans (2)	Resección quirúrgica de neoplasia de recto y reconstrucción pélvica	Tobramicina Metronidazol	Adecuado	Indeterminada (traslado a Unidad de Cuidados Paliativos)	Definitivo
2	16	F	Intolerancia a la lactosa	Dolor en fosa ilíaca derecha. FOI ^b	Sangre (2)	C. ureiceleivorans (2)	Exploración ginecológica.	Amoxicilina/ ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Definitivo
3	30	M	Sin interés	Dolor en fosa ilíaca derecha. FOI ^b	Sangre (2)	C. ureiceleivorans (2)		Amoxicilina/ ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Definitivo
4	66	M	Colecistitis aguda	Sepsis	Sangre (2)	C. ureiceleivorans (2)	Colecistectomía	Piperacilina/ tazobactam	Adecuado	Favorable	Definitivo
5	70	F	Leucemia Infunde crónica Agammaglobulinemia. Hipotirroidismo.	Diverticulitis perforada de colon. Sepsis. IRC ^c	Sangre (5)	C. ureiceleivorans (5)	Catéter Hickman Cirugía	Imipenem Ticoplanina	Adecuado	Exitus	Definitivo
6	60	M	Cirrosis hepática	Ascitis. Fiebre	Líquido ascítico (1)	C. ureiceleivorans (1)	Paracentesis	Amoxicilina/ ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Posible

* F: femenino, M: masculino. ^b Categorías según criterios descritos en la sección de material y métodos. ^c FOI: fiebre de origen indeterminado; ^d IRC: infección relacionada con catéter.

Tabla 89. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium xerosis* en muestras clínicas de dos pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano: adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	70	M	Linfoma de Burkitt Gastrectomía Quimioterapia Insuficiencia renal crónica	Infección de flebitis arteriovenosa de hemodialisis. IRC ^c femoral no documentada	Sangre (2)	C. xerosis (1)	Hemodialisis	Norfloxacino Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
2	79	F	Quiste en colédoco Cardiopatía Ictericidad	Pancreatitis aguda litásica Neumonía bilobar con broncoespasmo. Flebitis ^d	Sangre (2)	C. xerosis (1)	Cirugía endoscópica. Sonda vesical Catéter vascular peritánico	Tobramicina Ceftriaxona	Adecuado	Favorable	Definitivo

^a F: femenino, M: masculino; ^b Categoría según criterios descritos en material y métodos; ^c IRC: infección relacionada con catéter; ^d No se cultivó orina ni catéter vascular.

Tabla 90. Aspectos epidemiológicos, clínicos, significado, tratamiento y evolución en relación al aislamiento de *Corynebacterium* spp. en muestras clínicas de 10 pacientes.

Caso	Edad (años)	Sexo ^a	Condiciones de base	Diagnóstico clínico	Muestras clínicas (núm.)	Cultivo (núm.)	Manipulación	Tratamiento antimicrobiano	Tratamiento antimicrobiano adecuado/inadecuado	Evolución	Significado clínico ^b
1	91	F	Diabetes. Tratamiento previo inadecuado con CIP ^c	Infección partes blanda: úlcera de decúbito	Sangre (2)	<i>Corynebacterium</i> sp. (2)	Catéter vascular	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
2	64	M	Melanoma. Metástasis hepáticas. Anemia. Radioterapia	Neutropenia febril	Sangre (2)	<i>Corynebacterium</i> sp. (2)	Transfusión sanguínea	Imipenem	Adecuado	Desconocida	Definitivo
3	71	M	Leucemia mieloide crónica. Diabetes. Corticoterapia. Anemia. Tratamiento previo inadecuado con LEV ^d	Reacción febril transfusional. Bronconeumonía	Sangre (2)	<i>Corynebacterium</i> sp. (2)	Transfusión sanguínea	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Definitivo
4	59	F	Sarcoidosis. Corticoterapia. Tratamiento previo inadecuado con AZI ^e	Absceso pulmonar	Sangre (2)	<i>Corynebacterium</i> sp. (2) <i>C. amycolatum</i> (2)	Catéter vascular	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Probable
5	76	F	Neoplasia de colon. Diabetes	Peritonitis. Obstrucción intestinal.	Sangre (2)	<i>Corynebacterium</i> sp. (2)	Cirugía. Lavado peritoneal	Metronidazol. Tobramicina	Adecuado	Exitus	Definitivo
6	69	F	Neoplasia de colon. Quimioterapia	Neutropenia febril	Sangre (1)	<i>Corynebacterium</i> sp. (1)	Catéter vascular	Ceftriaxona	Adecuado	Favorable	Posible
7	86	M	Diabetes. IC ^f	ITU ^g sin filiar	Sangre (1)	<i>Corynebacterium</i> sp. (1)	Catéter vascular	Ciprofloxacino	Adecuado	Favorable	Posible
8	26	M	Tratamiento previo inadecuado con AZI ^h	NAC ^h sin filiar	Sangre (1)	<i>Corynebacterium</i> sp. (1)	Catéter vascular	Amoxicilina/ác. clavulánico	Adecuado	Favorable	Posible
9	69	F	Neoplasia de colon	IRC ⁱ	Catéter vascular (1)	<i>Corynebacterium</i> sp. (1)	Cirugía. Catéter vascular	Vancomicina	Adecuado	Favorable	Posible
10	79	F	Bocio multinodular. ICC ^j	ITU ^g sin filiar	Sangre (1)	<i>Corynebacterium</i> sp. (1)	Catéter vascular	Amoxicilina/ác. clavulánico	Adecuado	Exitus	Posible

^a M: masculino, F: femenino; ^b Categorías según criterios descritos en la sección de material y métodos; ^c CIP: ciprofloxacino; ^d LEV: Levofloxacino; ^e AZI: Azitromicina; ^f ICC: insuficiencia cardíaca congestiva; ^g ITU: infección del tracto urinario; ^h NAC: neumonía adquirida en la comunidad; ⁱ IRC: infección relacionada con catéter; ^j Cultivo mixto de dos corneobacterias (caso 16 de Tabla 70b)

La especie más frecuente fue *C. amycolatum* (43,5%), seguida de *C. coyleae* (22,9%) y *C. minutissimum* (10,4%). En los 38 neonatos, la prematuridad (9 casos), fiebre intraparto (5 casos), y la RPM ≥ 18 h (65,8%, 25 casos), seguida de partos por vía vaginal (97,4%, 29 casos) fueron las condiciones de base observadas.

Destacó el aislamiento de una única especie en cultivos periféricos de los neonatos, *C. amycolatum* en siete casos, pero no del resto de corinebacterias implicadas en bacteriemias neonatales.

El diagnóstico clínico de bacteriemia con significado clínico indeterminado en pacientes pediátricos estuvo condicionado a ser muestra única. En los ocho pacientes pediátricos no neonatos se observó: sepsis postquirúrgica con celulitis (uno; *C. striatum*), accidente cerebrovascular con hemiplejía derecha postvaricela (1; *C. imitans*), neumonía sin filiar (dos; *C. afermentans* y *C. freneyi*), otitis media sin filiar (uno; *C. afermentans*) e ITU sin filiar con reflujo vésico ureteral (uno; *C. argentoratense* en cultivo mixto con *C. amycolatum*) todos con aislamiento en sangre de las corinebacterias descritas respectivamente.

En la Tablas 71a-b se resumen los aspectos clínicos de 18 pacientes a los que se les aisló *C. afermentans* subsp. *afermentans* a partir de 27 muestras clínicas. En 16 pacientes fue a partir de sangre, y de ellos, cuatro con diagnóstico de sepsis. Otras patologías fueron: infecciones de partes blandas (tres), neumonía con derrame pleural (una), fiebre puerperal (una) y patología biliar (dos). Dos casos tuvieron relación con procedimientos de cardiología intervencionista: cateterismo cardiaco (bacteriemia) e implantación de marcapaso (infección de punto de inserción y contenido de la bolsa). En un caso se trató de colonización de catéter vascular en cultivo mixto con *S. haemolyticus*, sin extracción de hemocultivos.

Las condiciones de base fueron procesos neoplásicos (seis), tres de ellos oncohematológicos, y enfermedades crónicas degenerativas: artritis reumatoidea (una), cirrosis hepática (una) o diabetes (tres); todos ellos con el componente común de ser pacientes inmunocomprometidos.

En las Tablas 72a-f se resumen los datos clínicos de los 71 pacientes a los que se les aisló *C. amycolatum* en muestras clínicas: 41 en sangre, 24 en catéteres vasculares y 10 en

otras muestras no sanguíneas. En dos pacientes el aislamiento fue en sangre y catéter vascular y en otros dos en sangre y muestra no sanguínea.

El número total de muestras positivas fue de 104 (30% de las 346 muestras totales positivas a organismos del género *Corynebacterium*, como se expuso en Tabla 34): 69 sangre, 24 catéteres y 11 muestras no sanguíneas.

De los 24 catéteres vasculares donde se aisló *C. amycolatum*, 22 estaban infectados y dos colonizados. A excepción de una conexión, todos fueron cultivos de punta de catéter. Se diagnosticaron tres BRC, dos con catéter retirado y una con catéter permanente de Hickman. En 13 casos se realizó hemocultivo al paciente estando éste con tratamiento antimicrobiano y no se practicó en seis casos de pacientes adultos y ninguno de los pediátricos. Destacó que los pacientes a los que se les aisló *C. amycolatum* en catéteres vasculares fueron pacientes quirúrgicos (70,8%), de edad avanzada y patología grave subyacente, siendo 10 de ellos oncológicos. El tipo de cirugía predominante fue agresiva, complicada, de procesos agudos: aneurisma abdominal, peritonitis aguda, isquemia abdominal, embolismo pulmonar, shock hemorrágico y politraumatismo. Solo dos procesos quirúrgicos programados: obesidad mórbida y prótesis de cadera. El 33,3% (1/3 de los pacientes) fueron éxitos.

Por el contrario, los pacientes con aislamientos de *C. amycolatum* en sangre padecían patologías de especialidades médicas, no quirúrgicas, pero teniendo en común, el factor de inmunosupresión: Se trataba de siete procesos oncológicos y otras patologías crónicas como: artritis reumatoidea (2), diabetes (2), sarcoidosis (1), colitis ulcerosa (1), cirrosis hepática (una), SIDA (1), anemia aplásica y pancitopenia severa (2). En nueve pacientes se observó inmunosupresión terapéutica por corticoides, quimioterapia, radioterapia o inmunosupresores.

Los diagnósticos clínicos fueron: sepsis (3), bacteriemias en contexto de neutropenia febril (tres) o postquirúrgica (3), endocarditis sobre válvula nativa (1), infecciones de partes blandas (3), infecciones urinarias (2) y respiratorias (2), y un caso de osteomielitis.

En los 10 pacientes con aislamiento de *C. amycolatum* en muestras no sanguíneas, se observó predominio de mujeres (70%). Se estudiaron 11 muestras clínicas: seis OSCDP, cuatro lesiones cutáneas y un líquido peritoneal. En un paciente se aisló en cultivo mixto con *C. aurimucosum* en el OSCDP y líquido peritoneal; en los cinco casos restantes no se realizó

cultivo del líquido peritoneal. Se trató de seis pacientes nefrológicos en programa de diálisis peritoneal y cuatro infecciones de partes blandas. En cuatro casos (40%) se trató de mujeres jóvenes con edad media de 30,2 años, con diagnóstico de poliquistosis hepato-renal en programa de diálisis peritoneal. En dos pacientes inmunocomprometidos, artritis reumatoide y diabetes, la infección cutánea fue origen de sepsis.

Los aspectos clínicos observados en los 2 pacientes varones a los que se les aisló *C. appendicis* en sangre en dos y tres muestras respectivamente, se exponen en la Tabla 73. Ambos presentaron patología digestiva grave e inmunosupresión: colitis ulcerosa con plastrón y fístula íleo-cecal, y neoplasia de sigma con bacteriemia postquirúrgica respectivamente.

C. argentoratense, ya comentado en pacientes pediátricos, se aisló de un paciente en muestra de sangre en cultivo mixto con *C. amycolatum*. Se trató de un niño con ITU de repetición sin filiar. En esta ocasión el único hemocultivo se extrajo con tratamiento antibiótico betalactámico (Tabla 74).

C. aurimucosum se aisló en siete pacientes adultos de 10 muestras clínicas: Sangre (tres), catéteres vasculares (cuatro) y otras muestras no sanguíneas (tres): en un paciente en diálisis peritoneal en OSCDP y líquido peritoneal, y en otro paciente con artritis de rodilla, en líquido articular. Fue el agente causal de un BRC. Ha sido la tercera corinebacteria más aislada en bacteriemias neonatales (Tabla 75).

C. coyleae, tercera corinebacteria en frecuencia en este estudio se aisló en 13 pacientes adultos, de 24 de muestras clínicas: 19 de sangre, dos de catéter vascular, tratándose en un caso de BRC, y cuatro muestras no sanguíneas: líquido ascítico, PAAF de hematoma postraumático y lesión cutánea de un mismo paciente diabético, y bolsa de concentrado de hematíes en una paciente con reacción febril post-transfusional en un cuadro de anemia puerperal. Las condiciones de base fueron de procesos con inmunosupresión: oncológicos (cuatro), necrosis (una) y cirrosis hepática (una), diabetes (dos), insuficiencia renal crónica y hemodiálisis. En 5 casos se atribuyó el diagnóstico de sepsis y en cuatro de infección de partes blandas de carácter local o invasivo (Tablas 76 a-b).

C. freneyi se aisló en 3 pacientes, un paciente pediátrico inmunosuprimido con historia clínica de neumonías de repetición y ésta fue una de ellas, aislándose en una muestra de

sangre, y dos pacientes adultos, aislándose a partir de lesiones cutáneas (región cérvico-facial y vulvar respectivamente) tomadas mediante biopsia que plantearon el diagnóstico diferencial con infección fúngica y neoplásica (Tabla 77).

C. imitans se aisló, además del caso pediátrico ya comentado en LCR, de tres pacientes adultos de dos muestras de sangre cada uno con patologías no relacionadas entre sí. Se trató de un caso de fiebre e insuficiencia respiratoria, con catéter vascular que no se cultivó, otro caso de endocarditis infecciosa aguda en paciente con mixomas auriculares, y un caso de orquiepididimitis (Tabla 78).

En las Tablas 79 a-b se resumen los aspectos clínicos de 19 pacientes a los que se aisló *C. jeikeium*, cuarta corinebacteria en frecuencia en este estudio, en 36 muestras clínicas: 36 de sangre, dos catéteres vasculares y un OSCDP. Destacó la condición de grave inmunosupresión en 14 de los 19 pacientes: procesos oncohematológicos (ocho), SIDA (dos) trasplantados de órganos sólidos, insuficiencia renal crónica y diabetes. En cinco pacientes oncohematológicos se estableció el diagnóstico de BRC permanente de Hickman en cuatro de ellos. Otros procesos graves como sepsis (tres), endocarditis infecciosa aguda sobre válvula protésica (una), bacteriemia en relación con hematoma escrotal infectado, y en dos casos de accidentes cerebrovasculares con cuadro febril.

C. minutissimum se aisló de dos pacientes adultos (además de dos neonatos) a partir de sangre en muestra única, quitando definición a su significado clínico. Un paciente presentó patología digestiva, y otro oncohematológico con neutropenia febril postquimioterapia (Tabla 80).

C. mucifaciens se aisló de tres pacientes a partir de cinco muestras de sangre. Todos presentaron patología respiratoria, dos de ellos neumoconiosis, y una neumonía adquirida en la comunidad, y fueron portadores de catéter vascular pero no se solicitó cultivo de los mismos. Aunque el tratamiento antibiótico fue adecuado en los tres casos, uno de ellos falleció por proceso neoplásico asociado, como se expone en la Tabla 81.

Los dos aislados de *C. propinquum* se recuperaron de dos pacientes neoplásicos a partir de muestra única, sangre y catéter vascular respectivamente, hecho que restó importancia a su significado clínico (Tabla 82).

C. pseudodiphtheriticum se aisló en dos pacientes inmunocomprometidos a partir de cinco muestras de sangre. En ambos estuvo relacionado intervención quirúrgica en tracto digestivo: resección de pólipo en colon y PAAF de absceso hepático como complicación postoperatoria de adenocarcinoma de colon metastásico (Tabla 83).

C. riegelii se aisló de un paciente con BRC permanente de Hickman, diagnosticado de neoplasia de pulmón y hemocromatosis en tratamiento radioterápico (Tabla 84).

C. simulans se aisló de cuatro pacientes a partir de 7 muestras clínicas (Tabla 85). Destaca su relación con infección de partes blandas. En dos de ellos a partir de dos muestras de sangre cada uno, aunque con infección de partes blandas (piel y cavidad oral): cuadro febril en paciente con dermatitis atópica en uno y de sialoadenitis secundaria a intervención quirúrgica de carcinoma de base de lengua en otro. Los dos aislados restantes se recuperaron a partir de muestra no sanguínea única: PAAF de hematoma hepático traumático (uno) y lesión cutánea (uno), ésta última en cultivo mixto con *C. amycolatum*.

C. striatum se aisló de 28 pacientes a partir de 60 muestras en total: 47 de sangre, ocho catéteres vasculares y cinco muestras no sanguíneas (Tablas 86a-c). A pesar de incluir tres pacientes pediátricos (un neonato y dos niños de 13 años) en este grupo de pacientes se observó la media de edad más alta (61 años). Destacó la patología neoplásica en este grupo de pacientes, 14 de los 25 adultos (56%), cuatro oncohematológicos y 10 de órgano sólido. Se estableció el diagnóstico de BRC en seis pacientes, cuatro de ellas BRC permanente de Hickman en tres pacientes oncohematológicos y uno en programa de hemodiálisis. De los ocho catéteres vasculares estudiados, siete fueron infecciones y una colonización. Otras patologías a destacar fueron: bacteriemia secundaria a infección de partes blandas (5), sepsis (4), neumonía nosocomial (1). Los cultivos del catéter epidural para quimioterapia intratecal, la muestra de esputo y la de orina de los casos 9, 11 y 20 respectivamente, fueron positivos para *C. striatum* pero no procesadas en botellas de hemocultivo.

C. urealyticum, se aisló de ocho pacientes de predominio femenino (75%), a partir de 14 muestras clínicas: 11 de sangre, dos catéteres vasculares y una lesión cutánea (Tabla 87). Se diagnosticaron seis bacteriemias y dos IRC. En dos casos (una bacteriemia y una IRC) se relacionó con ITU (casos 4 y 7), aislándose también en la orina de los pacientes en cuantía

$>10^5$ UFC/cc; sin embargo no se pudo constatar este hallazgo en el caso 8, portador de sonda uretral. En dos casos la bacteriemia estuvo relacionada con infecciones de partes blandas. En los siete pacientes adultos se practicó algún proceso de manipulación diagnóstico terapéutica, siendo el más habitual el catéter vascular observado en cinco de ellos, seguido de cirugía en cuatro. En dos casos se había instaurado tratamiento antimicrobiano previo e inadecuado y tres casos la diabetes fue una condición de base.

En la Tabla 88 se recogen los aspectos clínicos de los seis pacientes a los que se aisló *C. ureicelerivorans* a partir de 14 muestras clínicas: en cada paciente se aisló de al menos dos muestras de sangre, 13 muestras en total, y en un paciente solo de una muestra de líquido ascítico. Todos estos pacientes presentaron patología digestiva: neoplasia de recto con absceso perineal fistulizado, diverticulitis perforada, colecistitis aguda, cirrosis hepática y dos pacientes jóvenes con fiebre de origen indeterminado y dolor en fosa iliaca derecha. Todos fueron intervenidos quirúrgicamente, excepto estos dos últimos casos que se resolvieron con tratamiento antibiótico.

C. xerosis, se aisló de dos pacientes a partir de cuatro muestras de sangre (Tabla 89), dos muestras de cada paciente y en cultivo puro, permitiendo establecer un significado clínico definitivo. En un caso se trató de un linfoma de Burkitt con quimioterapia y en programa de hemodiálisis, y en otro paciente con pancreatitis aguda y quiste de colédoco sometido a cirugía endoscópica.

En la Tabla 90 se resumen los hallazgos clínicos de 10 pacientes a los que se les aisló un organismo del género *Corynebacterium*, pero sin obtener la identificación de alguna especie reconocida hasta el momento. Se recuperaron de 15 muestras clínicas: 14 de sangre y un catéter vascular. Se diagnosticaron nueve bacteriemias (en cinco de ellas, dos muestras de sangre cada uno, siendo en un caso bacteriemia mixta con *C. amycolatum*), y una IRC. En cinco pacientes fue muestra única. El 50% de los pacientes tuvieron un diagnóstico de base de una neoplasia; otras patologías observadas fueron: diabetes (tres), sarcoidosis tratada con corticoides (uno) y bocio multinodular (uno). En tres casos se había instaurado un tratamiento antimicrobiano inadecuado previo. En dos casos se relacionó con ITU sin filiar.

En la Tabla 91 se resume el significado clínico en relación al aislamiento de las diferentes especies del género *Corynebacterium* en 218 pacientes estudiados.

Tabla 91. Significado clínico del aislamiento de las diferentes especies del género *Corynebacterium* en 218 pacientes estudiados.

Especie (núm. de pacientes)	Significado clínico			
	Definitivo (%)	Probable (%)	Posible (%)	Indeterminado (%)
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> ^a (18)	7 (38,9)	2 (11,1)	6 (33,3)	3 ^b (16,7)
<i>C. amycolatum</i> (71)	20 (28,2)	7 ^{1,2,3,4} (9,8)	34 ^{5,6,c} (47,9)	10 ^b (14,1)
<i>C. appendicis</i> ^a (2)	2	0	0	0
<i>C. argentoratense</i> (1)	0	0	1 ⁵	0
<i>C. aurimucosum</i> (12)	2 (16,7)	1 ¹ (8,3)	4 (33,3)	5 ^b (41,7)
<i>C. coyleae</i> (24)	7 (38,9)	3 ² (12,5)	3 (12,5)	11 ^b (45,8)
<i>C. freneyi</i> (3)	0	0	1	2
<i>C. imitans</i> ^a (4)	3	0	0	1
<i>C. jeikeium</i> ^a (19)	16 (84,2)	0	2 (10,5)	1 (5,3)
<i>C. minutissimum</i> (4)	0	0	1	3 ^b
<i>C. mucifaciens</i> ^a (3)	2	0	1	0
<i>C. propinquum</i> (2)	1	0	1	0
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> ^a (2)	2	0	0	0
<i>C. riegelii</i> ^a (1)	1	0	0	0
<i>C. simulans</i> (4)	2	0	1 ⁶	1
<i>C. striatum</i> ^a (28)	12 (42,9)	4 ³ (14,3)	11 ^c (39,3)	1 ^b (3,6)
<i>C. urealyticum</i> ^a (8)	6 (75,0)	0	1 (12,5)	1 (12,5)
<i>C. ureicelerivorans</i> ^a (6)	5 (83,3)	0	1 (16,7)	0
<i>C. xerosis</i> ^a (2)	2	0	0	0
<i>Corynebacterium</i> spp. (10)	4 (40,0)	1 ⁴ (10,0)	5 (50,0)	0
Total (218) ¹⁻⁶	94 (43,1%)	14 ¹⁻⁴ (6,4%)	71 ⁵⁻⁶ (32,6%)	39 (17,9)

^a Especies con mayoría de significado clínico definitivo o probable. ^b Todos o predominio de aislados procedentes de hemocultivos de neonatos. ¹⁻⁶ Cultivos mixtos de dos corinebacterias en la misma muestra de un paciente: ¹ *C. amycolatum* y *C. aurimucosum*, ² *C. amycolatum* y *C. coyleae*, ³ *C. amycolatum* y *C. striatum*, ⁴ *C. amycolatum* y *Corynebacterium* spp., ⁵ *C. amycolatum* y *C. argentoratense*, ⁶ *C. amycolatum* y *C. simulans*. ^c Predominio de aislados a partir de catéteres vasculares.

Se aplicaron las definiciones señaladas en el apartado 3.5 de material y métodos para determinar el significado clínico del hallazgo de bacterias corineformes a partir de muestras clínicas humanas. En base a tales definiciones, se establecieron cuatro categorías: definitivo, probable, posible e indeterminado.

El significado clínico definitivo fue el más frecuente (43,1%), seguido por el de posible (32,6%), indeterminado (17,9%) y probable (6,4%).

De los seis cultivos mixtos con dos corinebacterias en la misma muestra de un paciente en los cuales siempre estuvo presente *C. amycolatum*, en cuatro de ellos el significado fue probable (*C. aurimucosum*, *C. coyleae*, *C. striatum* y *Corynebacterium* spp.) y en los dos restantes fueron de significado posible (*C. argentoratense* y *C. simulans*).

En 108 pacientes (49,5%) el significado clínico observado fue definitivo o probable, destacando estos significados en 11 de las 19 especies caracterizadas.

Tuvieron significado clínico definitivo en un total de 94 pacientes (43,1%). Se analizaron las especies de corinebacterias que se aislaron en ≥ 6 pacientes (≥ 8 aislados) con esta significación clínica en un porcentaje $\geq 75\%$ obteniendo los siguientes resultados: *C. jeikeium*: 84,2% ($p < 0,000$), *C. ureicelerivorans*: 83,3% ($p: 0,085$) y *C. urealyticum*: 75% ($p: 0,071$). Sin embargo, en los pacientes donde se aisló *C. striatum*: 42,9% ($p: 0,918$) este porcentaje fue el más próximo a la media, y con $\leq 40\%$ en el caso de *Corynebacterium* spp.: 40% ($p: 0,898$), *C. afermentans* subsp. *afermentans*: 38,9% ($p: 0,783$), *C. amycolatum*: 28,2% ($p: 0,004$) y *C. coyleae*: 29,2% ($p: 0,179$).

Tuvieron significado clínico definitivo o probable en un total de 108 pacientes (49,5%). Analizadas del mismo modo las especies de corinebacterias que se aislaron en ≥ 6 pacientes con estas dos categorías de significación clínica en un porcentaje $\geq 75\%$, se obtuvieron idénticos resultados de porcentajes y significación clínica (p) que los anteriores en las tres especies: *C. jeikeium*, *C. ureicelerivorans* y *C. urealyticum*. Sin embargo se observaron resultados diferentes con estas significaciones clínicas entre ≥ 50 y $< 75\%$ en: *C. striatum* (57,2%; $p: 0,419$), *C. coyleae* (51,4%; $p: 0,388$); *C. afermentans* subsp. *afermentans* y *Corynebacterium* spp. (ambos 50,0%, $p: 0,999$). Del mismo modo, considerando $< 40\%$: *C. amycolatum* (38,0%; $p: 0,015$) y *C. aurimucosum* (25,0%; $p: 0,127$).

Por tanto, la única especie relacionada de forma significativa con un diagnóstico clínico definitivo o definitivo más probable fue *C. jeikeium* ($p: 0,005$; OR: 5,3; IC95%: 1,6-17,5).

C. amycolatum, la especie más frecuentemente aislada en este trabajo (30,8% del total de corinebacterias y 25,3% del total de corineformes), alcanzó los niveles más bajos de significación clínica (categorías de posible o indeterminada) (p : 0,015; OR: 2,0; IC95%: 1,1-3,6).

Se observó incremento del porcentaje en *C. coyleae* y *C. striatum*, al tener en cuenta las dos categorías, pero en ningún caso con significación estadística.

En los 71 pacientes (32,6%) con significado clínico de posible, segundo en frecuencia, destaca el aislamiento de *C. amycolatum* y *C. striatum* a partir de catéteres vasculares (20 y cuatro casos respectivamente), siendo muestra única con cultivo positivo para corinebacterias y ausencia de solicitud de cultivo o negatividad del mismo de otra muestra clínica.

De los 39 pacientes (17,9%) con significado clínico indeterminado, el 74,3% (29 casos) fueron bacteriemias neonatales y los agentes más frecuentemente implicados fueron: *C. coyleae*, *C. amycolatum* y *C. aurimucosum*. En los nueve neonatos restantes, con bacteriemia por *C. amycolatum*, se estableció el significado clínico definitivo.

4.5.3 Cultivos mixtos

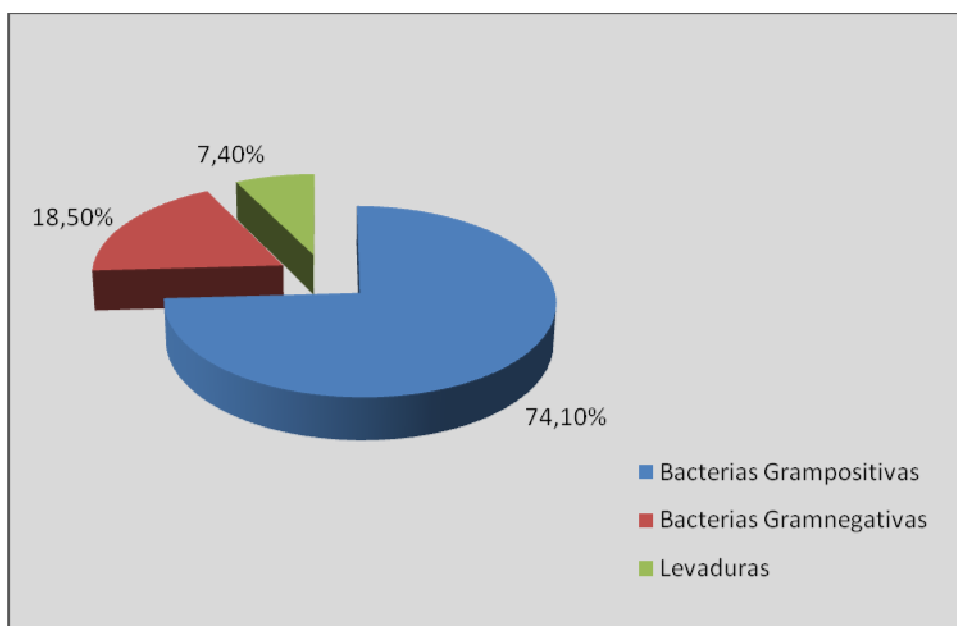
En la Tabla 92 se resumen los microorganismos asociados a corinebacterias en cultivo mixto, muestras y significado clínico en 25 pacientes.

Se identificaron 27 microorganismos en cultivo mixto con el aislamiento de corinebacterias en 29 muestras clínicas (8,4% de las 346 estudiadas) de 25 de los 218 pacientes estudiados (11,5% del total). Estos fueron caracterizados como: 20 bacterias grampositivas (74,1%), cinco bacterias gramnegativas (18,5%) y dos levaduras (7,4%) (Figura 15).

Entre las bacterias grampositivas se encontraron siete corineformes (seis corinebacterias y un *Mycobacterium canariasense*) y 13 pertenecientes a otros géneros, destacando *Staphylococcus* spp. (10 casos). Entre las bacterias gramnegativas destacaron los bacilos gramnegativos no fermentadores multirresistentes (*A. baumannii*, *S. maltophilia* y *P. aeruginosa*), que se aislaron en pacientes con hospitalización prolongada, diagnóstico de

gravedad y tratamiento antibiótico previo. Del mismo modo, las levaduras se aislaron en cultivo mixto con *C. amycolatum* en catéteres vasculares en pacientes quirúrgicos diagnosticados de pancreatitis y neoplasia de colon.

Figura 15. Distribución de los 27 microorganismos aislados en cultivo mixto con corinebacterias.



C. amycolatum se aisló en 19 de estos 25 pacientes (76%), especie más frecuente en los cultivos mixtos. Estuvo involucrado en los seis pacientes (24%), 2,7% de los 218 estudiados, con cultivo mixto de dos corinebacterias junto con: *C. argentoratense*, *C. aurimucosum*, *C. coyleae*, *C. simulans*, *C. striatum* y *Corynebacterium* spp. En 19 de los 71 pacientes donde se recuperó fueron cultivos mixtos (26,8%).

Tabla 92. Microorganismos asociados a corinebacterias en cultivo mixto, muestras y significado clínico de su aislamiento en los 25 pacientes en que se recuperaron.

Especies (núm. total pacientes)	Núm. de pacientes con cultivo mixto	Microorganismos asociados en cultivo mixto. Descripción.	Tipo de Muestra	Significado Clínico
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (18)	1	<i>S. haemolyticus</i> MS ¹	Catéter vascular	Probable
<i>C. amycolatum</i> (71)	19	<i>C. argentoratense</i>	Sangre	Posible
		<i>C. aurimucosum</i>	OSCDP ² y Líquido peritoneal ³	Probable
		<i>C. coyleae</i> *		Probable
		<i>C. simulans</i>	Sangre	Posible
		<i>C. striatum</i> *	Lesión cutánea	Probable
		<i>A. baumannii</i>	Sangre y lesión cutánea ³	Posible
		<i>Corynebacterium</i> sp.	Catéter vascular	Probable
		<i>S. aureus</i> MS ¹	Sangre	Posible
		<i>S. aureus</i> MR ⁴	Sangre y catéter vascular ³	Probable
		<i>S. epidermidis</i> MR ⁴	Catéter vascular	Posible
		<i>S. epidermidis</i> MR ⁴	Sangre	Posible
		<i>S. lugdunensis</i> MS ¹	Catéter vascular	Posible
		<i>E. faecalis</i>	Catéter vascular	Posible
		<i>E. faecalis</i>	Catéter vascular	Posible
		<i>S. maltophilia</i> , <i>E. coli</i> y <i>E. faecalis</i> ⁵	Catéter vascular	Posible
		<i>E. coli</i>	Catéter vascular	Posible
		<i>M. canariensis</i>	Catéter vascular	Posible
		<i>C. albicans</i>	OSCDP	Posible
		<i>C. glabrata</i>	Catéter vascular	Probable
			Catéter vascular	
<i>C. coyleae</i> (24)	2*	<i>S. aureus</i> MS ¹	Hematoma (PAAF) y lesión cutánea ³	Probable
		<i>S. haemolyticus</i> MS ¹	Sangre	Probable
<i>C. striatum</i> (28)	3*	<i>S. epidermidis</i> MS ¹	Catéter vascular	Probable
		<i>P. aeruginosa</i>	Sangre	Probable
		<i>S. aureus</i> MR ⁴	Lesión cutánea	Posible
Total (141)	25	27	29	14 Posible 11 Probable

*Un paciente ya incluido en *C. amycolatum*. ¹MS: metilicín-sensible. ²OSCDP: Orificio de salida de catéter de diálisis peritoneal. ³ Dos muestras en un paciente. ⁴MR: metilicín-resistente. ⁵ Una muestra con 3 microorganismos en cultivo mixto con *C. amycolatum*.

Las 29 muestras fueron: ocho de sangre y ocho de otras muestras no sanguíneas (27,6% respectivamente) y 13 catéteres vasculares (44,8%), siendo ésta la muestra más frecuente de hallazgo de cultivo mixto. Se identificó un microorganismo asociado a la corinebacteria en cada paciente excepto en un catéter vascular, con tres aislados. En cuatro pacientes se observó el cultivo mixto en dos muestras.

Al haberse considerado que los cultivos mixtos impedían catalogar el aislamiento de corinebacterias como de significado clínico definitivo, no hubo casos con esta consideración. Sin embargo se estimó que en 14 (56%) y 11 (44%) casos el significado fue posible y probable, respectivamente.

4.5.4. Manipulación diagnóstico-terapéutica

En la Tabla 93 se resumen los procedimientos de manipulación diagnóstica y terapéutica que fueron aplicados a los 172 pacientes adultos estudiados (93,0%) a los que se les aisló un organismo del género *Corynebacterium*. Estos procedimientos se agruparon en cirugía, dispositivos intravasculares, endoscopia digestiva y otros (otros catéteres, punciones y biopsias).

En el 23,1% de los pacientes (37 casos) se les había practicado alguna intervención quirúrgica. En los pacientes donde se aisló *C. ureicelerivorans* y *C. appendicis*, la cirugía practicada fue exclusivamente en relación con el tracto digestivo.

La realización de endoscopias digestivas fue antecedente previo en 11 pacientes ((6,9%). Entre las denominadas otras manipulaciones, destacaron siete pacientes (4,4%) sometidos a diálisis peritoneal, con predominio de *C. amycolatum* en seis de ellos, uno en cultivo mixto con *C. aurimucosum*, y en el paciente restante se aisló *C. jeikeium*. Otros procedimientos observados fueron: biopsia (7), PAAF (5), catéter epidural para administración de quimioterapia intratecal (4), sondaje vesical (3), toracocentesis (2) y paracentesis (1).

En ocho de los 15 pacientes nefrológicos (9,4%), ocho en programa de hemodiálisis y siete en diálisis peritoneal, se aisló *C. amycolatum*, en cultivo mixto con *C. aurimucosum* en un paciente. Otros aislados en relación a la manipulación en estos pacientes fueron: *C. striatum* (3), *C. jeikeium* (2) y *C. xerosis* (1).

Tabla 93. Manipulación diagnóstico-terapéutica en 172 pacientes adultos estudiados a los que se les aisló un organismo del género *Corynebacterium*.

Especie (núm. pacientes adultos)	Cirugía	Dispositivos intravasculares	Otros procesos ^a	Endoscopias Digestivas
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> (10)		1 CV ^b 1 C. cardíaco ^c 1 Marcapaso 1 Transfusión sanguínea	2 Biopsias ganglionar y médula ósea	1
<i>C. amycolatum</i> (49)	6	25 CV ^b (51,0%) 2 Hemodiálisis 2 Transfusión sanguínea	1 Toracocentesis 2 Catéter epidural 6 Diálisis peritoneal ^d	2
<i>C. appendicis</i> (2)	2			
<i>C. aurimucosum</i> (7)	2	3 CV ^b (42,8%) 1 Hemodiálisis 1 Transfusión sanguínea	1 Biopsia médula ósea y renal 1 PL ^e 1 Diálisis peritoneal ^d	
<i>C. coyleae</i> (13)	1	5 CV ^b (38,5%)	1 PAAF de hematoma, 1 PL ^e . 1 Toracocentesis 1 Paracentesis 1 Catéter epidural	1
<i>C. freneyi</i> (2)			2 Biopsias cutáneas	
<i>C. imitans</i> (3)		1 CV ^b		1
<i>C. jeikeium</i> (19)	4	11 CV ^b (57,9%) 1 C. cardíaco ^c 1 Hemodiálisis 1 Transfusión sanguínea	1 Biopsia ganglionar y médula ósea 1 PAAF pulmonar 1 Diálisis peritoneal	
<i>C. minutissimum</i> (2)		1 CV ^b		1
<i>C. mucifaciens</i> (3)		3 CV ^b		
<i>C. propinquum</i> (2)	1			
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> (2)			1 PAAF hepática	1
<i>C. riegelii</i> (1)		1 CV ^b		
<i>C. simulans</i> (4)	2	1 CV ^b	1 PAAF de hematoma	
<i>C. striatum</i> (22)	8	10 CV ^b (45,4%) 1 Transfusión sanguínea 3 Hemodiálisis	1 Biopsia cutánea 1 Catéter epidural 1 PAAF articular 1 Sondaje vesical	1
<i>C. urealyticum</i> (7)	4	5 CV ^b 1 Transfusión sanguínea	1 Sondaje vesical	1
<i>C. ureicelerivorans</i> (6)	5	1 CV ^b	1 Paracentesis	2
<i>C. xerosis</i> (2)		1 CV ^b 1 Hemodiálisis	1 Sondaje vesical	
<i>Corynebacterium</i> spp. (10)	2	7 CV ^b (70%) 1 Transfusión sanguínea		
Total (160*) (93,0%)	37 (23,1%)	76 CV ^b (47,5%) 8 Hemodiálisis 8 Transfusión sanguínea. 2 C. cardíaco ^c 1 Marcapasos	7 Diálisis peritoneal (4,4%) 7 Biopsias 5 PAAF 4 Catéter epidural 3 Sondaje vesical 2 PL ^e 2 Toracocentesis 1 Paracentesis	11 (6,9%)

*Cuatro pacientes con cultivo mixto por dos corinebacterias. ^a Otros procesos: catéteres no vasculares, punciones, biopsias. ^b CV: Catéter vascular. ^c Cateterismo cardíaco. ^d Cultivo mixto. ^e Punción lumbar.

En los 46 pacientes pediátricos (21,1%), los procedimientos recogidos fueron los siguientes: en los 38 neonatos se observaron 29 partos eutócicos, ocho partos instrumentalizados (cuatro con ventosa y otros cuatro con fórceps) y una cesárea; en los ocho niños no neonatos, sólo se observaron dos casos, siendo uno de ellos una punción lumbar traumática en niño de tres años con diagnóstico de accidente cerebrovascular post-varicela, y otro niño de 13 años con catéter vascular e intervenido quirúrgicamente por traumatismo craneoencefálico.

4.5.5 Bacteriemias relacionadas con catéter vascular

Según el criterio establecido en el apartado 3.5.1 de material y métodos, se aplicó el diagnóstico microbiológico de bacteriemia relacionada con catéter vascular (BRC), retirado o permanente, por corineformes en 19 pacientes. Además de las dos producidas por corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium*, una BRC retirado por *Microbacterium oxydans* y otra BRC permanente por *D. natronolimnaea* en el apartado 4.1, se observaron 17 episodios de BRC por organismos del género *Corynebacterium*, pertenecientes a seis especies. En la Tabla 94 se resume el número de casos de BRC por especie, indicando si el catéter vascular fue retirado o permanente. Las especies que más han estado en relación con BRC han sido *C. striatum* y *C. jeikeium*. Las BRC permanente de Hickman han estado relacionadas con procesos oncohematológicos, donde convergen factores de riesgo como inmunosupresión, hospitalización prolongada y/o frecuente, tratamientos antimicrobianos previos por parte del paciente, y manipulación de este dispositivo o cuerpo extraño en contacto con la piel del enfermo durante un tiempo prolongado.

Tabla 94. Bacteriemias relacionadas con catéter vascular por corineformes en 19 pacientes.

Especies	Catéter vascular retirado (núm. pacientes)	Catéter vascular permanente (núm. pacientes)	Total (núm. pacientes)
<i>C. amycolatum</i>	2	1	3
<i>C. aurimucosum</i>	1	0	1
<i>C. coyleae</i>	1	0	1
<i>C. jeikeium</i>	1	4	5
<i>C. riegelii</i>	0	1	1
<i>C. striatum</i>	2	4	6
<i>D. natronolimnaea</i>	0	1	1
<i>M. oxydans</i>	1	0	1
Total	8	11	19

4.5.6 Evolución y tratamiento

De los 218 pacientes estudiados, 205 (94,0%) fueron tratados adecuadamente y 13 (6,0%) de forma inadecuada.

Se establecieron tres categorías en cuanto a la evolución de los pacientes donde se aisló alguna corinebacteria: i) favorable, si el paciente se recuperó del episodio; ii) indeterminado, si el paciente fue trasladado a otro centro, solicitó el alta voluntaria o era imposible determinar, y por último, iii) éxitus. Los resultados se exponen en la Tabla 95.

Las tasas de evolución favorable, indeterminada y éxitus para pacientes que recibieron tratamiento considerado adecuado (n= 205) fueron del 85,4%; 4,4% y 10,2%, respectivamente. Por otra parte, las mismas tasas para aquellos pacientes que recibieron tratamiento considerado inadecuado (n= 13) fueron del 38,5%; 7,7% y 53,8%, respectivamente.

Revisados los antibióticos utilizados en el tratamiento de las infecciones por corinebacterias en los 218 pacientes estudiados, se clasificaron en cuatro grupos: betalactámicos, glicopéptidos, aminoglucósidos y fluorquinolonas y un grupo heterogéneo formado por metronidazol, cotrimoxazol, clindamicina, linezolida y antifúngicos (azoles). El grupo de antibióticos más utilizado fue el de betalactámicos, seguido de glicopéptidos y

aminoglucósidos. Las fluorquinolonas fueron las menos utilizadas en estos pacientes con predominio de infección invasiva. En el 49,5% de los casos (108 pacientes) recibieron tratamiento antibiótico combinado.

Todos los neonatos recibieron tratamiento adecuado y combinado de betalactámicos y aminoglucósido (ampicilina y gentamicina) y todas la/s corinebacteria/s aisladas fueron sensibles al menos a uno de los dos antibióticos, cuya administración fue seguida a la toma de muestra/s y su evolución fue favorable.

El tratamiento antibiótico adecuado y la evolución favorable se observó en 175 pacientes, 80,3% del total.

Fallecieron 28 pacientes (12,8%). En 21 de los 196 casos habían sido tratados adecuadamente (10,7%, y 9,6% del total) y siete de los 12 casos inadecuadamente (58,3%). En ambas situaciones se trató de pacientes con grave enfermedad de base y/o infecciones mixtas con microorganismos multirresistentes. En 10 pacientes (4,6%) la evolución fue indeterminada: en nueve de ellos por traslado a otro centro sanitario y en el restante por solicitud de alta voluntaria. En nueve de estos 10 pacientes el tratamiento fue adecuado.

Si se excluyen del análisis aquellos pacientes con evolución indeterminada las tasas de evolución favorable fueron 89,3% y 41,7% para pacientes con tratamiento adecuado e inadecuado respectivamente (p: 0,000; OR: 11,7, IC95%: 3,6-38,1). Por lo tanto, la evolución es más favorable si se recibe tratamiento adecuado (10 veces más favorable), que si no se recibe.

Tabla 95. Tratamiento antimicrobiano y evolución, por especies, en 218 pacientes a los que se les aisló un organismo del género *Corynebacterium*.

Especies (núm. de pacientes)	Tratamiento antimicrobiano adecuado vs evolución			Tratamiento antimicrobiano inadecuado vs evolución			Tratamiento antimicrobiano descriptivo					Núm. de pacientes con tratamiento antimicrobiano combinado
	Favorable	Indeterminado	Exitus	Favorable	Indeterminado	Exitus	BL ^a	GL ^b	AG ^c	FQ ^d	Otros ^e	
<i>C. afermentans</i> subsp. <i>afermentans</i> ⁺ (18)	12	3	2	1	0	0	14	6	5	1	1	8
<i>C. amycolatum</i> (71)	56 ¹⁻⁶	1	8	2	1	3	36 ³	32 ⁵	33 ^{3,5}	9	9	43 ^{3,5}
<i>C. appendicis</i> (2)	2	0	0	0	0	0			2		2	2
<i>C. argenteoratense</i> (1)	1 ¹	0	0	0	0	0	1					0
<i>C. aurimucosum</i> (12)	11 ²	0	1	0	0	0	9	7	6			9
<i>C. coyleae</i> (24)	20	1	3	0	0	0	18 ³	4	13 ³	2	3	15 ³
<i>C. freneyi</i> (3)	3	0	0	0	0	0	2			1		0
<i>C. imitans</i> ⁺ (4)	4 ³	0	0	0	0	0	2	1	1	2		2
<i>C. jeikeium</i> ⁺ (19)	15	1	2	1	0	0	5	15	2	1	4	8
<i>C. minutissimum</i> (4)	3	0	0	1	0	0	4	1	2			4
<i>C. mucifaciens</i> ⁺ (3)	2	0	1	0	0	0	2			1		0
<i>C. propinquum</i> (2)	2	0	0	0	0	0		1		1		0
<i>C. pseudodiphtheriticum</i> ⁺ (2)	2	0	0	0	0	0	2					0
<i>C. riegelii</i> ⁺ (1)	1	0	0	0	0	0		1				0
<i>C. simulans</i> (4)	4 ⁴	0	0	0	0	0	3	1				0
<i>C. striatum</i> ⁺ (28)	24 ⁵	1	1	0	0	2	17	12 ⁵	6 ⁵	1	2	10 ⁵
<i>C. urealyticum</i> ⁺ (8)	6	0	0	0	0	2	3	5	4	1		4
<i>C. ureicelerivorans</i> ⁺ (6)	4	1	1	0	0	0	5	1	1		1	2
<i>C. xerosis</i> ⁺ (2)	2	0	0	0	0	0	1	1	1	1		2
<i>Corynebacterium</i> spp. (10)	7 ⁶	1	2	0	0	0	4 ¹	4	1 ¹	1	1	1
Total (218 ¹⁻⁶)	175 ¹⁻⁶	9	21	5	1	7	127 ³	91 ⁵	75 ^{3,5}	22	23	108 ^{3,5}

^a BL: Betalactámicos; ^b GL: Glicopéptidos; ^c AG: Aminoglucósidos; ^d FQ: Fluorquinolonas; ^e Otros: Metronidazol (12), Cotrimoxazol (3), Linezolid (2), Antifúngicos(4). ¹⁻⁶: 6 pacientes con 2 corinebacterias en una misma muestra.

5. DISCUSIÓN

La importancia y los avances técnicos en la caracterización fenotípica y genotípica de las bacterias corineformes aisladas de muestras clínicas, han ido paralelos a su reconocimiento como patógenos oportunistas y su implicación en patología infecciosa muy diversa, algunas graves o invasivas, que pueden condicionar desfavorablemente el pronóstico del paciente, destacando de este modo la importancia asociada de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana con el objeto de aplicar la terapia empírica y definitiva adecuada. Se cierra así la relación entre los tres vértices del triángulo que define la infección: microorganismo (caracterización y valoración), paciente (condiciones de base, diagnóstico) y antimicrobiano (elección del más eficaz en función de las pruebas *in vitro*, naturaleza de la infección y posibles efectos adversos).

5.1. DATOS MICROBIOLÓGICOS

a) Incidencia

En el estudio microbiológico de 47.360 muestras clínicas seleccionadas se obtuvieron 431 (3,7%) positivas a bacterias corineformes (346 *Corynebacterium* spp. y 86 corineformes no *Corynebacterium* spp.), similar incidencia a la publicada por Balci *et al.*, 2002 (3,4%).

Estas muestras, procedentes de 270 pacientes hospitalizados (221 adultos y 49 pediátricos) en un periodo de cinco años, fueron 350 de sangre y 33 muestras no sanguíneas, ambas inoculadas en botellas de hemocultivo del sistema BacT/Alert™ también utilizado en otros estudios (Legrau *et al.*, 1998) y 48 catéteres vasculares.

Excluyendo los repetidos, se identificaron 300 aislamientos de corineformes pertenecientes a 13 géneros y 38 especies. Esta diversidad también es observada por otros autores (Babay y Kambal, 2004) que identificaron 50 corineformes de 19 especies a partir de hemocultivos en un periodo de dos años. El género *Corynebacterium* fue el más frecuente (82,3%) resultado coincidente con otros estudios previos de incidencia y caracterización de corineformes aislados de un número importante de muestras clínicas humanas (Wauters *et al.*,

1996; Funke *et al.*, 1997e; Lagrou *et al.*, 1998; Balci *et al.*, 2002; Ubaldi *et al.*, 2004; Funke y Bernard, 2007).

b) Frecuencia de géneros y especies

La identificación a nivel de género y especie se obtuvo en el 95,3% de los aislados, cifra superior a la obtenida por Lagrou *et al.*, 1998 del 86,7%, en 150 muestras no respiratorias en seis meses. Sin embargo, en 14 aislados (4,7%), 10 del género *Corynebacterium*, la identificación solo se concretó a nivel de género. Este resultado posibilita la descripción de nuevas especies, reafirmando la continua actualización taxonómica en los últimos años coincidiendo con el desarrollo e implementación en el laboratorio de Microbiología de nuevas técnicas diagnósticas quimiotaxonómicas (Van de Velde *et al.*, 2006) y moleculares como la secuenciación de genes: 16S rADN (Aubel *et al.*, 1997; Drancourt *et al.*, 2000), *rpoB* (Khamis *et al.*, 2004) o *divIVA* (Letek *et al.*, 2006). Por otra parte, desde el año 2003 están siendo descritos genomas completos de corinebacterias, que explican su caracterización fenotípica y su comportamiento y patogenicidad: *C. diphtheriae* (Cerdeño-Tárraga *et al.*, 2003), *C. jeikeium* (Tauch *et al.*, 2005), *C. urealyticum* (Tauch *et al.*, 2008a), *C. kroppenstedtii* (Tauch *et al.*, 2008b) y *C. aurimucosum* (Tauch, comunicación personal, 2008).

Se identificaron 19 especies del género *Corynebacterium* (50% del total de especies corineformes), de las 44 descritas en la actualidad en muestras clínicas humanas. El origen de 14 de estas especies del género *Corynebacterium* no es exclusivamente humano, también se han aislado solo de muestras animales (10 especies) y/o del ambiente o vegetales (seis especies).

Solo dos especies, *C. jeikeium* y *C. urealyticum* han sido aisladas de humanos, animales y ambiente (Puskar *et al.*, 2007; Rosato *et al.*, 2001; Tauch *et al.*, 2005; Gómez *et al.*, 1995; Bailiff *et al.*, 2005; Nieto *et al.*, 1996; Soriano y Tauch, 2008). Ambas comparten características fenotípicas de multirresistencia antibiótica frecuente, lipofilia y crecimiento lento de colonias pequeñas.

La mayoría de las corinebacterias aisladas en este estudio fueron fermentativas y no lipófilas coincidente con otros estudios (Wauters *et al.*, 1996; Funke *et al.*, 1997e; Lagrou *et al.*, 1998; Balci *et al.*, 2002; Ubaldi *et al.*, 2004; Funke y Bernard, 2007). Únicamente cuatro

especies lipófilas fueron aisladas: *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, *C. appendicis* y *C. ureicelerivorans*. El hallazgo/identificación de éstas dos últimas especies es un dato excepcional ya que se trata de la primera vez que se recoge su aislamiento en sangre de *C. appendicis* y la segunda referencia bibliográfica además de la correspondiente a su descripción (Yassin *et al.*, 2002b). En el caso de *C. ureicelerivorans* ha sido motivo de publicación (Fernández-Natal *et al.*, 2008) además de su descripción (Yassin *et al.*, 2007).

Además de la diversidad de especies identificadas del género *Corynebacterium*, no es solo destacable en este estudio el aspecto cuantitativo, sino también el cualitativo, al identificarse especies infrecuentes, raras por la identificación en sí misma (Funke y Bernard, 2007) como *C. aurimucosum* (6,1%), *C. coyleae* (10,9%), *C. mucifaciens* (1,2%), *C. simulans* (1,6%), *C. xerosis* (0,8%) o de reciente descripción como *C. ureicelerivorans* (3,2%) (Yassin, 2007), así como por su aislamiento a partir de un tipo de muestra infrecuente o no descrito previamente: *C. urealyticum* (3,2%), o *C. appendicis* (3,2%), en que lo más conocido/relevante ha sido su implicación en infecciones del tracto urinario (Soriano y Tauch, 2008) y absceso apendicular (Yassin *et al.*, 2002b) respectivamente, o *C. imitans* (1,6%) y *C. argentoratense* (0,4%) en infecciones de garganta (Riegel *et al.*, 1995a; Kania *et al.*, 2008; Funke *et al.*, 1997b).

La especie más frecuente fue *C. amycolatum* (30,9%), seguida de *C. striatum* (13,5%), *C. coyleae* (10,9%), *C. jeikeium* (9,3%) y *C. aurimucosum* (6,1%). Estas cinco especies supusieron el 70,6% del total de especies del género *Corynebacterium*.

c) Frecuencia de géneros y especies según tipo de muestra

Hemocultivos

Las especies más frecuentes observadas en hemocultivos fueron: *C. amycolatum* (24%), *C. coyleae* (12,9%), *C. jeikeium* y *C. striatum* (11,5% ambos), *C. afermentans* subsp. *afermentans* (9,3%), *C. aurimucosum* (4,7%).

C. amycolatum ha sido la especie predominante (30,0% del total de muestras positivas al género *Corynebacterium*) en los tres tipos de muestra estudiados: sangre, catéteres vasculares

y muestras no sanguíneas inoculadas en botella de hemocultivo. Las 41 bacteriemias por *C. amycolatum* recogidas en este estudio, se observaron en pacientes inmunocomprometidos hospitalizados en especialidades médicas no quirúrgicas (diferentes patologías crónicas, neoplasias, sometidos a terapia inmunosupresora, etc.).

En la mayoría de las publicaciones se reconoce como la especie fermentativa no lipófila más frecuentemente aislada de muestras clínicas humanas (Wauters *et al.*, 1996; Wauters *et al.*, 1998; Funke *et al.* 1996a; Riegel *et al.*, 1996). Sin embargo, difiere de otros trabajos, donde destacaron otras especies como *C. propinquum* (12%), (Babay y Kambal, 2004) o *C. jeikeium* (51,6%) (Balci *et al.*, 2002), ambos estudios realizados sobre corineformes aislados en hemocultivos en un periodo de tiempo de dos años, o *C. pseudodiphtheriticum* en diversas muestras clínicas, siendo frecuente esta especie en neumonías comunitarias (Chudnicka y Koziol-Montewka, 2003).

C. coyleae además de ser el tercero en frecuencia del total de las corinebacterias recuperadas, ha sido la segunda especie más frecuente en sangre, 22 de los 27 aislados (12,9%), después de *C. amycolatum* (24%) y más frecuente que *C. jeikeium* y *C. striatum*. De los 32 aislados de *C. coyleae* publicados, 18 procedían de sangre (Fernández-Natal *et al.*, 2008).

C. jeikeium ha sido la cuarta corinebacteria más aislada del total (9,3%) y la primera de las cuatro especies lipófilas identificadas en este estudio, siendo la sangre el tipo de muestra predominante (81,2%). De los 23 aislados, se recuperaron 20 de sangre, dos de catéter vascular y uno de OSCDP, coincidente con lo ya publicado sobre *C. jeikeium* (Riegel *et al.*, 1996; Mookadam *et al.*, 2006; Schiff *et al.*, 2004) desde su descripción (Jackman *et al.* 1988).

Se comprobó que el aislamiento de *C. jeikeium* en sangre, presentó diferencias estadísticamente significativas frente al resto de especies ($p: 0,032$). Este resultado es concordante con otros trabajos (Riegel *et al.*, 1996; Lagrou *et al.*, 1998; Balci *et al.*, 2002) relacionándose con bacteriemias y sepsis en pacientes neutropénicos, inmunocomprometidos, pero no con endocarditis (Mookadan *et al.*, 2006) aunque se deba sospechar en pacientes con prótesis valvular que revistan gravedad por ser necesario con frecuencia su recambio (Belmares *et al.*, 2007), y por su condición de multirresistencia. Se ha descrito la producción de

anticuerpos específicos de 50 y 52 kDa, y seroconversión, en 14 casos de sepsis y uno de endocarditis por *C. jeikeium* (Clark *et al.*, 1990).

C. striatum, ha sido la segunda especie del género *Corynebacterium* más aislada del total (13,5%) y la tercera, al igual que *C. jeikeium*, de sangre (11,5%). Se observaron 20 bacteriemias por *C. striatum* (71,4% de los 28 pacientes estudiados, uno de ellos pediátrico), siendo por tanto, la sangre, la muestra más frecuente y coincidiendo con otros autores que han destacado su aislamiento en este tipo de muestra (Balci *et al.*, 2002; Babay *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2005; Adderson *et al.*, 2008). El contexto clínico de estos pacientes con bacteriemia, de predominio inmunocomprometidos, fue de neoplasias de órgano sólido u oncohematológicos, infección de lesiones de piel y tejidos blandos, BRC, y neumonía, en un caso de origen nosocomial en paciente con enfermedad obstructiva crónica, situación ya descrita por Renom *et al.*, 2007, y otra en un paciente inmunodeprimido diagnosticado de neoplasia bronquial. Estos hallazgos confirman la importancia de este microorganismo que forma parte de la flora normal de la piel, como patógeno emergente oportunista nosocomial (Otsuka *et al.*, 2006; Renom *et al.*, 2007) o comunitario (Lee *et al.*, 2005), con capacidad de asociarse a muy diversas infecciones (Martínez-Martínez *et al.*, 1998; Chudnicka y Koziol-Montewka, 2003; Schiffi *et al.*, 2004; Scolle, 2007; Belmares *et al.*, 2007) tanto en pacientes inmunodeprimidos como inmunocompetentes (Funke y Bernard, 2007).

De los 19 aislados (7,7% del total) de *C. afermentans* subsp. *afermentans* en 18 pacientes, el 83,3% (16 pacientes) se recuperaron a partir de sangre, descrito ya por otros autores (Balci *et al.*, 2002; Babay *et al.*, 2004), siendo este tipo de muestra la más frecuente, coincidente con otros autores (Riegel *et al.*, 1996) y en siete de ellos en número de dos o tres muestras por paciente. Predominó en ellos el rasgo de inmunodepresión (5) (neoplasia, cirrosis hepática, diabetes, artritis reumatoidea), un caso de neumonía con derrame pleural y un caso de sepsis en paciente con colecistitis alitiásica. En los cuatro pacientes pediátricos con bacteriemia por *C. afermentans* subsp. *afermentans*, dos fueron bacteriemias neonatales de significado clínico indeterminado por tratarse de muestra única, y dos en niños de dos y 11 años diagnosticados de otitis media aguda y neumonía sin filiar, respectivamente. Este microorganismo ya ha sido relacionado con sepsis (Kumari *et al.*, 1997), otitis media aguda (Simonet *et al.*, 1993; Renaud *et al.*, 1996) e infecciones respiratorias (Minkin y Shapiro, 2004).

Los 15 aislados de *C. aurimucosum* (6,1% del total) procedieron de ocho muestras de sangre (4,7%), cuatro de catéteres vasculares y tres de muestras no sanguíneas: un OSCDP, un líquido peritoneal y un líquido articular. Se han publicado escasas referencias en relación con esta especie y la mayoría debidas a su caracterización microbiológica, bien diferenciándola de *C. minutissimum* con quien tiene una estrecha relación filogenética (Yassin *et al.*, 2002a) o como sinónimo de *C. nigricans* (Shukla *et al.*, 2003; Daneshvar *et al.*, 2004) aislado fundamentalmente de muestras relacionadas con el aparato genitourinario femenino. Ha sido considerada la segunda especie más frecuente aislada en infecciones de prótesis articulares (Roux *et al.*, 2004) después de *C. striatum*, sin embargo, el aislado procedente de líquido articular de hombro de este estudio se trató de una bursitis y no de una prótesis articular (no origen nosocomial). Al igual que en el presente estudio, su caracterización definitiva fue molecular mediante secuenciación del gen 16S rADN.

Este trabajo recoge una de las series más amplias de muestras de hemocultivos positivas a corinebacterias en general (171; 69,2%) y de pacientes pediátricos en particular.

En pacientes pediátricos, excepto una muestra de LCR (*C. imitans*), el hemocultivo ha sido el tipo de muestra donde se aislaron los 48 microorganismos corineformes, 45 corinebacterias pertenecientes a 10 especies y tres no corineformes, todos del género *Brevibacterium*. La implicación de bacterias corineformes en infecciones pediátricas no ha sido referida con frecuencia y suelen aparecer como casos aislados o series reducidas (Berner *et al.*, 1997; Cattani *et al.*, 2000; Adderson *et al.*, 2008). El hecho de que no se haya aislado ningún corineforme a partir de catéter vascular en pacientes pediátricos, puede ser debido al escaso número de niños con patología neoplásica que son tratados en este hospital.

Las 19 especies identificadas del género *Corynebacterium* y los 10 aislados *Corynebacterium* sp. se han aislado al menos en una muestra de hemocultivo; por tanto se pone de manifiesto la posibilidad de recuperar gran diversidad de corineformes de esta muestra estéril y la potencial patogenicidad de estos microorganismos de producir infecciones invasivas.

Las bacterias corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium* supusieron un 17,7% del total. Las más frecuentes fueron *Brevibacterium* spp. (31,9%), *Dermabacter hominis* (9,4%) y *Gordona sputi* (9,4%). Estos resultados no coinciden con lo publicado en otros estudios de identificación de corineformes en muestras clínicas humanas (Chudnicka y Koziol-

Montewka, 2003), que describen el género *Brevibacterium* como segundo en frecuencia después de *Dermabacter hominis* (Lagrou *et al.*, 1998). Sin embargo, es coincidente que *Brevibacterium casei*, especie más conocida y frecuente (Funke *et al.*, 1994) también lo sea en este estudio, que supuso el 13,1% del total de corineformes no-corinebacterias.

Es destacable, por su infrecuencia, el aislamiento de cinco cepas de *Gordonia sputi* (9,4%), a partir de sangre (4) y catéter vascular (1). Otras bacterias corineformes identificadas en menor cuantía pero relevantes por su rareza en muestras clínicas humanas fueron: *Actinomyces naeslundii* (1), género *Arthrobacter* (2 *A. cumminsii*, 1 *A. oxydans* y 1 *Arthrobacter* sp.), género *Dietzia* (1 *D. cinnamea* y 2 *D. natronolimnaea*), género *Janibacter* (1 *J. limosus* y 3 *J. sanguinis*), *Listeria monocytogenes* (1), género *Microbacterium* (1 *M. hominis* y 4 *M. oxydans*), *Rhodococcus fascians* (2) y género *Rothia* (3 *R. dentocariosa* y 1 *R. mucilaginosa*).

Catéteres vasculares

Las muestras positivas a organismos del género *Corynebacterium* en catéteres vasculares (45; 18,2%), fue el segundo tipo de muestra en frecuencia, después de los hemocultivos. Este estudio aporta el mayor número de casos de IRC y diversidad de aislados, ocho especies distintas del género *Corynebacterium*. Las más frecuentes han sido: *C. amycolatum* (53,3%), *C. striatum* (20,0%) y *C. aurimucosum* (8,9%)

En este tipo de muestra destaca *C. amycolatum*, que no solo ha sido la especie más frecuente (53,3%) con significación estadística ($p < 0,001$) sino que resultó ser cuatro veces más frecuente recuperarla en esta muestra que en los otros dos grupos de muestras estudiadas (sangre y muestras no sanguíneas). Destaca su aislamiento en pacientes quirúrgicos, con intervenciones agresivas, en procesos agudos y complicados que evolucionaron hacia la muerte en un tercio de los casos. En la revisión bibliográfica, las referencias a IRC por *C. amycolatum* han sido reducidas (Esteban *et al.*, 1999; Oteo *et al.*, 2001) y relacionadas con infecciones hospitalarias en pacientes con grave patología de base.

La segunda especie en frecuencia aislada de catéteres vasculares, *C. striatum* (20%), se recuperó de nueve pacientes inmunocomprometidos, en el ámbito hospitalario (dos de ellos con catéter permanente de Hickman), que concuerda con el perfil de pacientes previamente publicado (Lee *et al.*, 2005; Otsuka *et al.*, 2006; Adderson *et al.*, 2007), siendo necesario, en

ocasiones, la retirada de este material extraño para la erradicación de la infección ocasionada (Lee *et al.*, 2005). En este trabajo se observó un caso de aislamiento en el mismo paciente de *C. striatum* de catéter vascular y de líquido articular (bursitis de hombro). Ya ha sido descrito este microorganismo en infección espontánea articular (Scholle, 2007), pero sin concomitancia con IRC.

El aislamiento en catéter vascular de especies más conocidas, como *C. striatum*, *C. jeikeium* o *C. urealyticum*, ya se ha recogido en otros trabajos (Lee *et al.*, 2005; Soriano *et al.*, 1988a), pero es la primera vez que se describe el aislamiento de *C. aurimucosum* (cuatro aislados en tres pacientes), relacionado hasta ahora con muestras genitourinarias femeninas, sangre e infecciones osteoarticulares (Yassin *et al.*, 2002; Danhesvar *et al.*, 2004; Roux *et al.*, 2004), y el de *C. coyleae* (un caso), descrito previamente en sangre, infecciones de partes blandas, orina, bolsa de sangre o prostatitis (Fernández-Natal *et al.*, 2008).

Recientemente se ha descrito por primera vez la capacidad de *C. urealyticum* de producción de biopelícula *in vitro* en material no biológico (placas de poliestireno), siendo los organismos asociados a ella menos susceptibles al efecto bactericida de los antibióticos; la exposición a los mismos puede favorecer la selección de resistencia así como también explicaría la dificultad para su erradicación en infecciones crónicas (Soriano *et al.*, 2008). La adhesión de las corinebacterias a catéteres vasculares y urinarios, de cloruro de polivinilo y teflón, se ha estudiado en *C. urealyticum* y *C. jeikeium*, demostrando que la capacidad de adhesión de ambas corinebacterias fue significativamente mayor que la observada en *Micrococcus* sp., pero no se observó diferencia entre ambas, por lo que esta propiedad no explicaría su diferente patogenicidad (Soriano *et al.*, 1993b).

La principal fuente de infecciones nosocomiales es la flora endógena de los pacientes hospitalizados, sobre todo de su piel, ya que la transmisión de las bacterias desde ella es muy efectiva y la presencia de bacterias del género *Corynebacterium* se encuentra en número constante y persistente (Każmierczak y Szewczyk, 2004). Con la finalidad de paliar el problema de adhesión y posterior colonización de catéteres intravasculares (ya que están en contacto con la piel), infección local (IRC) o a distancia, se han descrito sustancias capaces de inhibir la adhesión de *Corynebacterium* spp. a catéteres de silicona, que actuarían como una barrera como recurso para el control de IRC (Fontana *et al.*, 2007) y prevención de ulteriores

BRC, y métodos para el sellado antibiótico de los catéteres permanentes en pacientes oncológicos en periodos con neutropenia severa, ante la inconveniencia o dificultad de su retirada (Cesaro *et al.*, 2007).

Como infecciones a distancia, secundarias a la colonización e IRC, además de BRC o endocarditis, también se han descrito infecciones diferidas por corineformes de cuerpos extraños, como prótesis articulares, a partir de cateterizaciones vasculares en cirugía cardíaca y enfatizando la importancia de la profilaxis antimicrobiana para evitar su asentamiento (adhesión) en dicho material extraño (Conway *et al.*, 2006). En este estudio se observaron BRC por corinebacterias en 17 pacientes (10,4%), siete BRC retirado y 10 BRC permanente producidas por seis especies. Algunas ya han sido referidas en la literatura como causa de BRC, como *C. striatum* (Lee *et al.*, 2005) y *C. jeikeium* (Rozdzinski *et al.*, 1991), pero no *C. amycolatum* (un caso), también descrito otro por Oteo *et al.*, 2007, a pesar de ser siete veces más frecuente aislar *C. amycolatum* en catéter vascular que *C. jeikeium* en las muestras estudiadas en este trabajo.

Se destaca la descripción de BRC por corinebacterias no descritas previamente como *C. aurimucosum*, *C. coyleae* y *C. riegelii*, todas con escasas referencias en la literatura médica. La implantación y/o manipulación de dispositivos médicos permanentes o esporádicos, habituales en la práctica diaria hospitalaria, estableciendo contacto directo entre la piel y la sangre (que proporciona fibrina, humedad y temperatura idóneas) puede favorecer la formación de biopelículas, sobre todo en pacientes neutropénicos, oncológicos o inmunocomprometidos en general.

Muestras no sanguíneas inoculadas en botellas de hemocultivo

La positividad a organismos del género *Corynebacterium* de muestras no sanguíneas inoculadas en botellas de hemocultivo, excluyendo catéteres vasculares, estudiadas en este trabajo fue del 10,9%. Los 31 aislados procedieron de 27 muestras de 24 pacientes, uno de ellos pediátrico. Se identificaron 10 especies, la más frecuente *C. amycolatum* (35,5%), seguida por *C. striatum* y *C. coyleae* (12,9% ambas). Predominaron las procedentes de pacientes nefrológicos en programa de diálisis peritoneal (ocho OSCDP y tres líquidos peritoneales) y 11 cutáneas (nueve lesiones superficiales y dos biopsias). Otras muestras de líquidos estériles

han sido obtenidas por punción: dos líquidos articulares (1 *C. aurimucosum* y 1 *C. striatum*), y dos hematomas (subcutáneo con *C. coyleae*, y hepático con *C. simulans*), dos líquidos ascíticos con especies infrecuentes y/o de descripción reciente (*C. coyleae* y *C. ureicelerivorans*) y un caso de infección de marcapaso por *C. afermentans* subsp. *afermentans* aislado tanto de la lesión cutánea en el punto de inserción como de la bolsa.

Desde el punto de vista clínico, la infección del OSCDP se define como la presencia de exudado purulento con o sin eritema de la piel en la unión entre el catéter y la misma. El eritema sin drenaje puede ser signo de infección o de una dermatitis, sobre todo en catéteres colocados de forma traumática. *S. aureus*, *Staphylococcus* spp. coagulasa negativa y *Pseudomonas* spp. causan la mayoría de las infecciones relacionadas con el catéter peritoneal (Fariñas *et al.*, 2008). La profilaxis con rifampicina y mupirocina en los portadores nasales de *S. aureus* ha disminuido significativamente el número de infecciones de OSCDP y peritonitis secundarias (Ritzau *et al.*, 2001; Teixidó *et al.*, 2007). A la vez que se detecta el descenso en la incidencia de estos patógenos, está ocurriendo un cambio en la etiología de la peritonitis relacionada con la diálisis peritoneal (Szeto *et al.*, 2005), con un incremento significativo ($p: 0,008$) de *Corynebacterium* spp. (Teixidó *et al.*, 2007), sin concretar especie, y dando mayor relevancia a su significación clínica en estos pacientes: inmunocomprometidos, portadores de dispositivos y sujetos a manipulación médica y con tratamientos cíclicos antimicrobianos.

El aislamiento de microorganismos en el OSCDP puede tratarse de una colonización o de una infección, estimándose cada una de estas dos situaciones en un 50% de los casos (Teixidó *et al.*, 2007). La peritonitis es la complicación más grave en pacientes sometidos a diálisis peritoneal. La infección del OSCDP y peritonitis consecuente, se estima entre un 2-9% y 1-4% respectivamente (Fariñas *et al.*, 2008). En este estudio, en dos de los ocho casos de infección de OSCDP por *Corynebacterium* spp., se documentó la infección de OSCDP y peritonitis, aislándose en un caso *C. amycolatum* en cultivo puro y en otro *C. aurimucosum* y *C. amycolatum*, este último no descrito previamente en la literatura médica. En el caso de la peritonitis restante (*C. striatum*), no se solicitó cultivo del OSCDP.

Otro caso excepcional observado fue el aislamiento en el cultivo de un OSCDP de *C. amycolatum* en cultivo mixto con *Mycobacterium canariasense*, tampoco referido en la literatura hasta el momento.

En la revisión bibliográfica de peritonitis por corineformes realizada por Szeto *et al.*, 2005, entre los años 1983 y 1998, se recogen 14 casos, cinco de ellos sin identificación microbiana, tres por corineformes no *Corynebacterium* y seis casos por corinebacterias, haciendo especial relevancia a las peritonitis recurrentes por estos microorganismos y la buena evolución de las mismas al ser tratadas con vancomicina.

Es de destacar el aislamiento de *C. amycolatum* asociado a OSCDP (seis de los ocho casos) y la ausencia de *C. striatum*. Sin embargo, en otros trabajos se ha descrito esta última especie como predominante en estas muestras (Ubaldi *et al.*, 2004). Este trabajo recoge en tres años (1998-2001) 31 muestras de OSCDP y seis líquidos peritoneales de un total de 54 muestras clínicas estudiadas con predominio de *C. striatum* seguido de *C. amycolatum*. Schiffli *et al.*, 2004, en un periodo de 10 años, recogen ocho casos de infección de OSCDP, cinco producidos por *C. striatum* y tres por *C. jeikeium*. Se han descrito casos aislados de infección del OSCDP por *C. striatum* (Crabtree y García, 2003).

Como ocurre con los catéteres vasculares, la pérdida de continuidad de la piel, el material extraño en contacto con ella, la manipulación y las características subyacentes de estos pacientes, hacen posible que estas bacterias saprofitas de piel y mucosas encuentren condiciones idóneas para colonizar e infectar. Su reconocimiento, caracterización apropiada y valoración ayudará a establecer un tratamiento antibiótico correcto, teniendo en cuenta que algunas cepas pueden ser multirresistentes. La asepsia en la inserción del catéter y el tratamiento adecuado del OSCDP con antisépticos han sido asociados a la reducción de episodios de infección en pacientes con diálisis peritoneal (Teixidó *et al.*, 2007).

Se observaron dos casos de artritis séptica sin prótesis, con aislamiento de *C. striatum* y *C. aurimucosum* de líquidos articulares obtenidos por PAAF e inoculados en botella de hemocultivo. Ambas especies, y en este orden, ya han sido señaladas como las dos más frecuentes involucradas en infecciones articulares e identificadas mediante secuenciación del gen 16S rADN (Roux *et al.*, 2004).

Han sido publicadas infecciones articulares producidas por otras especies del género *Corynebacterium* y su asentamiento fue por inoculación directa (cirugía, artroscopia): *C. pseudiphtheriticum* identificada por técnica molecular (Kemp *et al.*, 2005) en una artritis de rodilla secundaria a artroscopia, *C. jeikeium* (Tleyjeh *et al.*, 2005). *C. amycolatum*, *C. striatum*,

C. jeikeium y *C. diphtheriae* biotipo *mitis* fueron identificadas en un estudio realizado en muestras obtenidas de cirugía ortopédica en un periodo de cinco años (von Graevenitz *et al.*, 1998) o diseminación hematógena por *Corynebacterium* grupo G-2 (Quinn *et al.*, 1991), artritis séptica y endocarditis, así como *C. amycolatum* en un caso de artritis nativa séptica de cadera secundaria a sepsis por injerto vascular contralateral (Clarke *et al.*, 1999).

En las infecciones osteoarticulares, la información aportada por los cultivos microbiológicos, como técnica de referencia, puede dar resultados falsos negativos cuando el paciente ha recibido o está recibiendo tratamiento antimicrobiano, o si se trata de prótesis y formación de biopelículas. La frecuencia de las infecciones de prótesis articulares se estima en 1,5-2,5%, lo que representa un alto coste (Lentino, 2003). Las nuevas técnicas genéticas (PCR) pueden ser complementarias para su correcto diagnóstico. La ausencia de ADN bacteriano ayudaría a decidir sobre la continuidad o no del tratamiento instaurado o la reintervención quirúrgica con reemplazamiento de la prótesis (van der Heijden *et al.*, 1999; Vandercam *et al.*, 2008). El inconveniente de estas técnicas, a pesar de su alta sensibilidad, consiste en que no se dispondría de aislado para realizar antibiograma (Kemp *et al.*, 2005). Se han descrito cepas de *C. striatum* multirresistentes en artritis séptica (Scholle, 2007).

Se han aislado de lesiones cutáneas, en siete pacientes, cinco especies del género *Corynebacterium*: *C. afermentans* subsp. *afermentans*, *C. amycolatum*, *C. coyleae*, *C. simulans* y *C. striatum*. Al formar parte de la flora normal de piel y mucosas sanas, tiene importancia la valoración/significación clínica de su aislamiento en este tipo de muestra y ésta dependerá del modo de obtención (punción aspirativa), presencia de leucocitos polimorfonucleados y signos locales o sistémicos de infección.

Es de destacar el aislamiento de *C. freneyi* en las dos únicas biopsias cutáneas estudiadas, hecho no publicado anteriormente. El aislamiento de *C. freneyi*, infrecuente en la literatura, fundamentalmente debido a la dificultad de su acertada identificación, ha sido publicado en 22 muestras clínicas (Funke y Frodl, 2008). Se ha recuperado en cinco ocasiones de lesiones cutáneas (infección de partes blandas: abscesos y úlceras) (Renaud *et al.*, 2001; Funke y Frodl, 2008) pero no de biopsias, siendo en este trabajo la primera vez que se presenta este resultado. Se trató de dos lesiones cutáneas descamativas clínicamente compatible con neoplasia cutánea en región vulvar, perineal y púbica en un caso, y en otra con

infección fúngica en cara, cuello y cuero cabelludo, motivo por el que se procedió a la toma de biopsia. Se ha descrito como predominante el aislamiento de *C. freneyi* a partir del tracto genital femenino sin asociarse a patología (Funke y Frodl, 2008); en este trabajo, una de las biopsias de lesión descamativa fue de dicha localización.

d) Identificación microbiológica

Los resultados obtenidos indican que la concordancia de API Coryne con la identificación genotípica fue del 14,2%, porcentaje inferior al referido por otros autores: 45,4% (Funke *et al.*, 1997e) y 66,3% (Almuzara *et al.*, 2006). Esta diferencia podría atribuirse al momento en que se realizó el estudio, en el primer caso porque desde entonces se han descrito al menos 22 especies nuevas, y en el segundo caso, por la menor diversidad de especies encontradas en las 78 corinebacteria estudiadas. API Coryne ha sido útil para identificar cinco especies: *C. argentoratense*, *C. propinquum*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. urealyticum* (100% de cepas estudiadas) y *C. jeikeium* (93,8%). Se obtuvieron 50 perfiles para 11 identificaciones diferentes, la más frecuente (42,9%) fue *C. striatum/amycolatum*. Esta identificación bivalente correspondió a ocho especies distintas por secuenciación del gen 16S rADN, incluyendo todos los aislados identificados como *C. aurimucosum*, *C. minutissimum*, *C. xerosis* y el 93,9% de *C. striatum*; sin embargo, solo correspondió al 64,5% de los auténticos *C. amycolatum*.

Se destaca la importancia de realizar la lectura de este sistema comercial al menos a las 48 h de incubación, para evitar falsos resultados por fermentación lenta de algunos de los sustratos incluidos. Ejemplo de ello es la identificación de *C. coyleae*, que a las 24 h API Coryne lo interpreta como *C. afermentans/coyleae* y prolongando la incubación a 48 h, la fermentación lenta de glucosa y ribosa permite descartar *C. afermentans* aunque el sistema comercial lo interpreta como *C. jeikeium*, por lo que es necesario discriminar por el aspecto de las colonias (húmedas, brillantes y de mayor tamaño en *C. coyleae* y secas y pequeñas en *C. jeikeium*), además de la multirresistencia y lipofilia de *C. jeikeium*. Del mismo modo, la incubación >48 h y hasta 7 días, necesaria para observar la fermentación lenta de azúcares, es útil para discriminar entre *C. urealyticum*, *C. bovis* (oxidativas), *C. ureicelerivorans* y *C. appendicis* (fermentativas), además de ser necesario aplicar otras pruebas complementarias (Fernández-Natal *et al.*, 2008).

Todos los aislados identificados por secuenciación del gen 16S rADN como *C. coyleae*, *C. appendicis* y *C. ureicelerivorans*, se identificaron por API Coryne a las 48 h como *C. jeikeium*, *C. urealyticum* y *C. bovis* respectivamente.

Los perfiles obtenidos por el sistema API Coryne u otro comercial no son suficientes para realizar una identificación definitiva a nivel de especie, aunque se trate de un perfil individualizado, único y con porcentaje elevado de identificación. La interpretación y validación de esta identificación dependerá de la experiencia del microbiólogo (basada en datos morfológicos del cultivo), quien realizará las pruebas complementarias más adecuadas para hacer el diagnóstico diferencial entre especies.

API Coryne más pruebas complementarias fue muy resolutivo, con una concordancia del 90,3%, porcentaje similar al obtenido por otros autores: 90,5% (Funke *et al.*, 1997e) y 91% (Almuzara *et al.*, 2006). Las especies no identificadas fueron tres: *C. appendicis*, por ser necesario prolongar la incubación (incluso hasta 7 días) para poner de manifiesto la fermentación débil de glucosa y diferenciar de *C. urealyticum*, y *C. aurimucosum* y *C. minutissimum*, ambos con gran variabilidad en los resultados de estas pruebas y semejanza en el aspecto de colonias, excepto si *C. aurimucosum* presentara pigmentación negra.

Por tanto, el sistema comercial API Coryne más pruebas complementarias individuales bien orientadas es un buen sistema de identificación fenotípica de estos microorganismos, pero no se adaptan a la rutina de un laboratorio de Microbiología Clínica asistencial porque está condicionado por: i) la experiencia del microbiólogo en la orientación de las pruebas a realizar y la subjetividad en la interpretación de las mismas; ii) la variabilidad de resultados dependiendo de las condiciones del procedimiento como el tamaño del inóculo, medio de cultivo utilizado, requerimiento lipídico o fenotipos infrecuentes (Funke *et al.*, 1997e; Funke *et al.*, 1997f) y iii) consume recursos humanos y materiales (tiempo en su preparación e interpretación y material fungible), prolongando el tiempo de respuesta, indicador de eficacia y eficiencia, hasta, al menos, cuatro días. Este último aspecto podría ser paliado con la información precoz al médico responsable del paciente, emitiendo un informe preliminar con la identificación a nivel de género acompañada del estudio de sensibilidad antimicrobiana y posteriormente emitir el informe definitivo con la identificación completa final a nivel de especie.

Los resultados de sensibilidad a novobiocina con halos de inhibición ≥ 30 mm no sirvieron para discriminar entre especies fermentativas no lipófilas con semejanzas fenotípicas entre ellas, como *C. aurimucosum*, *C. minutissimum* y *C. striatum*, ya que los seis aislados con diámetros inferiores correspondieron a estas 3 especies no lipófilas y fermentativas, con aspecto morfológico similar de sus colonias: húmedas, brillantes y bordes lisos (*C. aurimucosum*, 4; *C. minutissimum*, 1; *C. striatum*, 1), con rango entre 12 y 18 mm. Tampoco sirvió como criterio diferencial entre *C. afermentans* subsp. *afermentans* y *C. coyleae*, ya que ambas presentaron resultados similares. Destaca el contraste entre los resultados obtenidos en *C. amycolatum* (93,4% de resistencia) y *C. striatum* (90,9% de sensibilidad), ambas no lipófilas y fermentativas, así como entre *C. jeikeium* (87% de sensibilidad) y *C. urealyticum* (87,5% de resistencia), ambas lipófilas y multirresistentes y morfología de colonias semejante, pudiendo tener aplicación como ayuda en la identificación fenotípica de las especies. El resultado de novobiocina frente a *C. urealyticum* no coincide con el obtenido por Santamaría *et al.*, 1985, donde fueron sensibles el 90,0% (27 de 30 aislados), señalando que el método aplicado fue dilución en agar con CMI ≤ 8 $\mu\text{g/mL}$.

La susceptibilidad al factor vibriostático O/129 fue propuesta inicialmente por Funke *et al.*, 1996a, como prueba diferenciadora entre *C. amycolatum* (resistente) y *C. xerosis* (sensible). En este estudio, el 93,4% de las cepas de *C. amycolatum* fueron resistentes, resultado concordante también con lo referido por Renaud *et al.*, 1998, pero, sin embargo, no ha de ser valorado como marcador diferencial único porque en otros estudios los resultados obtenidos han sido del 37,0% de sensibilidad (Lagrau *et al.*, 1998). El porcentaje de resistencia al factor vibriostático O/129, próximo al 50,0%, no fue discriminatorio en *C. coyleae* (44,4%) ni en las 11 especies englobadas como *Corynebacterium* spp., por su reducido número de aislados (≤ 4) o no identificación a nivel especie (10) (60,5%).

La producción de αGLU fue detectada en una de las 76 cepas de *C. amycolatum* estudiadas. Este hecho infrecuente ha sido referido previamente por Wauters *et al.*, 1998, que describen en una serie de 210 *C. amycolatum* tres cepas αGLU -positivas a la vez que una cepa de *C. xerosis* αGLU -negativa, poniendo de manifiesto que la presencia de esta enzima, al igual que la susceptibilidad al factor vibriostático O/129, no son marcadores diagnósticos únicos para establecer el diagnóstico diferencial entre estas dos especies ni a su vez con otras

corinebacterias fermentativas no lipófilas estrechamente relacionadas, como *C. freneyi* αGLU-positiva (Renaud *et al.*, 2001; Funke y Frodl, 2008), y *C. hansenii*, αGLU-negativa (Renaud *et al.*, 2007), para lo que será necesario aplicar técnicas moleculares: PCR del ITS16S-23S e hibridación ADN-ADN respectivamente.

Biolog es bastante resolutivo (70,0% de concordancia con secuenciación del gen 16S rADN) con la ventaja de no depender de juicios subjetivos por aplicar lectura automática de las pruebas, y de tener menor tiempo de respuesta (4-24 h), aunque también dependerá de la experiencia del microbiólogo la validación del resultado final. Biolog presentó ventajas sobre API Coryne al identificar correctamente (100% de concordancia genotípica) y de forma individualizada todos los aislados correspondientes a *C. amycolatum* y *C. striatum*, y el 59,2% de *C. coyleae*, las tres especies más frecuentes en este trabajo, frente a ninguna de ellas mediante API Coryne. Además, identificó los cuatro aislados de *C. minutissimum*, no conseguido con API Coryne solo o con más pruebas complementarias, pero también identificó erróneamente el 53,3% de los *C. aurimucosum* como *C. minutissimum* (46,7% de especificidad y VPP del 33,3%). Por el contrario, se identificaron en mayor porcentaje con API Coryne que con Biolog las dos especies lipófilas más frecuentes: *C. jeikeium* (93,8% vs 86,9%) y *C. urealyticum* (100% vs. 75%).

Las identificaciones erróneas por los tres sistemas fenotípicos comparados fueron: 34,8% con API Coryne, 2% con API Coryne más pruebas complementarias y 24,7% con Biolog. En estudios precedentes realizados con API Coryne, estos porcentajes han sido inferiores: 3,8% (Funke *et al.*, 1997e) y 9,0% (Almuzara *et al.*, 2006).

En este estudio las identificaciones erróneas e individualizadas más habituales obtenidas con API Coryne fueron: *C. jeikeium* (n= 48) y *Corynebacterium* grupo G (n= 22), ambas lipófilas. Por tanto, estas identificaciones requerirán comprobación/diferenciación mediante pruebas complementarias. Con API Coryne más pruebas complementarias las identificaciones erróneas fueron de *C. appendicis* por *C. urealyticum*, y *C. propinquum* por un aislado identificado solo a nivel de género *Corynebacterium*. Con Biolog es destacable la diversidad de identificaciones erróneas: 14 especies distintas, 10 de las cuales no pertenecientes al género *Corynebacterium*, y los errores más habituales fueron *C. jeikeium* por *C. ureicelerivorans* (seis de ocho) y *C. minutissimum* por *C. aurimucosum* (ocho de 15).

Las siete especies no identificadas en este estudio por ninguno de los dos sistemas comerciales por sí solos fueron: *C. appendicis*, *C. aurimucosum*, *C. freneyi*, *C. riegellii*, *C. simulans*, *C. ureicelerivorans* y *C. xerosis*. Por sus peculiaridades bioquímicas y de cultivo, ponen en evidencia las limitaciones de los sistemas comerciales de identificación: i) el tiempo de incubación necesario (desde pocas horas a siete días), ii) especies que no reaccionen con los sustratos presentes (número de sustratos limitado) o suplementos nutricionales para ser reactivos, iii) bases de datos no actualizadas (Bernard, 2005). Son necesarias acciones de mejora continua en las pruebas a incluir en estos sistemas comerciales, actualizando la configuración de pruebas y sus bases de datos.

Por tanto, teniendo en cuenta: i) los resultados de identificaciones erróneas; ii) los porcentajes de identificación solo a nivel de género que fueron de 51,4% con API Coryne, de 7,7% con API Coryne más pruebas complementarias y de 3,2% con Biolog, y iii) que no se consiguieron identificar dos especies (*C. appendicis* y *C. aurimucosum*) por ninguno de los tres sistemas fenotípicos comparados, se pone de manifiesto las limitaciones de la identificación fenotípica y la utilidad de las técnicas de identificación genotípicas cuando la fenotípica es deficiente (Roux *et al.*, 2004) o requiere muchos recursos (Rodicio y Mendoza, 2004). Este es el caso de la secuenciación del gen 16S rADN, método de referencia utilizado en este estudio y previamente contrastada su utilidad en la caracterización genética bacteriana en general (Drancourt *et al.*, 2000) y del género *Corynebacterium* en particular (Stackerbrandt *et al.*, 1994; Pascual *et al.*, 1995; Ruimy *et al.*, 1995; Tang *et al.*, 2000; Bosshard *et al.*, 2003; Roux *et al.*, 2004; Bernard, 2005).

Otros métodos genéticos utilizados en la caracterización de corinebacterias han sido la secuenciación de un fragmento de 434-452 pb del gen *rpoB* por ser más polimorfo, no siendo necesaria la secuenciación completa del mismo (aproximadamente de 3.500pb) dándole así un aspecto práctico en el trabajo diario frente a la necesidad de secuenciar el gen 16S rADN en su totalidad (aproximadamente de 1.500pb) para obtener resultados más resolutivos (Khamis *et al.*, 2004), y el gen *divIVA*, que se ha demostrado eficaz en la diferenciación de especies fermentativas no lipófilas, frecuentes en la práctica asistencial diaria (Letek *et al.*, 2006).

Ya demostrada la validez de la secuenciación del gen 16S rADN, el interés se ha centrado en el punto de corte (*cutoff*) del porcentaje de semejanza de la secuencia obtenida

para la definición de género y especie, indicando el número de pb secuenciadas. Para Drancourt *et al.*, 2000, el corte estaría en $\geq 97\%$ para definir género y $\geq 99\%$ para definir especie. Por otro lado, Bernard *et al.*, 2002, estableció la definición de especie en $\geq 98\%$ de semejanza secuenciando entre 1.300 y 1.500 pb del gen y fue el criterio aplicado en este trabajo. A su vez, Stackerbrandt y Ebers, 2005, publicaron $\geq 98,7\%$ como punto de corte para definir una nueva especie. Se ha observado que varias especies diferenciadas presentan divergencias menores al 2% (Bernard, 2005) e incluso del 1,4% como ocurre entre *C. ureicelerivorans* y *C. mucifaciens* (Yassin, 2007) o semejanza $>99\%$ como entre *C. pseudodiphtheriticum* y *C. propinquum*. En la secuenciación del gen completo de *rpoB*, el punto de corte de definición de especie se ha establecido en $>96,6\%$ y para subespecies $>98\%$ de semejanza (Khamis *et al.*, 2004).

Sin embargo, habría que añadir otro escalón más, y es que cuando la caracterización fenotípica no es suficiente, no siempre se garantiza la caracterización genética completa con un método molecular, pudiendo ser necesario recurrir a otros, unos más asequibles que otros. Esto sucede en la diferenciación filogenética de *C. freneyi*, que no se puede diferenciar de *C. xerosis* por secuenciación del 16S rADN, pero sí por secuenciación del espacio intergénico 16S-23S (Renaud *et al.*, 2001), aunque algunos autores indican que las características colonias plegadas de *C. freneyi* permitirían su identificación y no las pruebas bioquímicas (Funke y Frodl, 2008), o *C. hansenii*, en que tanto la secuenciación del gen 16S rADN como la del gen *rpoB* y del espacio intergénico 16S-23S, no permiten su diferenciación de *C. freneyi* y *C. xerosis*, siendo necesario recurrir a la hibridación ADN-ADN (Renaud *et al.*, 2007), técnica compleja y laboriosa, cara y limitada a laboratorios de referencia. En contraposición a la efectividad de los métodos moleculares, *C. minutissimum* y *C. singulare* comparten una semejanza de secuenciación 16S rADN $>99\%$ y sin embargo la semejanza por hibridación ADN-ADN es $<40\%$; además, *C. singulare* presenta un rasgo fenotípico diferencial con *C. minutissimum*, que es la producción de ureasa (90%) (Riegel *et al.*, 1997b).

En este trabajo se realizó la secuenciación del gen *rpoB* para completar la caracterización de *C. freneyi* y *C. xerosis*, que permitió una “aproximación a su caracterización” de ambos junto con características fenotípicas distintivas de cada especie, como la morfología celular observada en el Gram (formas cocáceas en *C. xerosis*) y la morfología de las colonias

(plegadas, en *C. freneyi*), crecimiento en agar sangre a 20°C, fermentación de glucosa a 42°C, ambas a las 72 h de incubación. Se trata, por tanto, de la aplicación práctica de una identificación polifásica (Vandame *et al.*, 1996).

Es de destacar que dos especies que presentaron especial dificultad en cuanto a la caracterización/diferenciación morfológica y bioquímica, fueron identificadas únicamente por secuenciación del gen 16S rADN: *C. appendicis*, de crecimiento y metabolismo muy lento, y *C. aurimucosum*. Se logró diferenciar *C. aurimucosum* de *C. minutissimum*, especies estrechamente relacionadas fenotípica y genotípicamente: ambas fermentativas no lipófilas con pruebas bioquímicas y aspecto morfológico de sus colonias semejantes. Ninguna de ellas produjo pigmento negro. *C. aurimucosum*, con el 99,8% de semejanza en la secuencia del gen 16S rADN, fue diferenciada por hibridación ADN-ADN de *C. minutissimum*, con la que presenta un 42% de homología, fue descrita como especie nueva a partir de dos cepas, una procedente de sangre de un paciente con bronquitis y otra de muestra clínica desconocida (Yassin *et al.*, 2002a). Posteriormente se reconocieron como pertenecientes a esta especie 16 cepas con capacidad de producir pigmento negro aisladas del tracto genital femenino (entre los años 1961-1995 en EEUU, remitidas al CDC de Atlanta y catalogadas como FCG4 o corinebacterias fermentativas grupo 4) (Daneshvar *et al.*, 2004), antes identificadas como *C. nigricans* (Shukla *et al.*, 2004) en muestras genitales de seis mujeres con complicaciones diversas en el embarazo.

Prueba de esta continua innovación taxonómica de este género, es que 10 (4%) de los aislados estudiados del género *Corynebacterium* en este trabajo no se pudieron llegar a identificar a nivel de especie mediante secuenciación del gen 16S rADN y requerirán estudios posteriores para su completa caracterización. En otros estudios, el porcentaje de bacterias inidentificables por secuenciación del gen 16S rADN ascendió a 10,2% (Drancourt *et al.*, 2000), tratándose de bacterias de diversos géneros de origen veterinario, ambiental y humano.

La efectividad y eficiencia del microbiólogo se inicia en la valoración de la corinebacteria aislada, continuando con la consecución de su caracterización y realización del antibiograma, porque de la precocidad y adecuación del tratamiento antibiótico depende la evolución del paciente.

e) Sensibilidad a antibióticos

Aunque el método de microdilución en caldo sea el recomendado para la realización del antibiograma de bacterias corineformes en el documento M45-A del CLSI 2007, en este trabajo el más utilizado ha sido el E test y en menor medida difusión disco placa, por la buena correlación entre los tres métodos (Zapardiel *et al.*, 1994; Martínez-Martínez *et al.*, 1995) y la sencillez del procedimiento, aportando información de la CMI en el estudio de 17 antibióticos.

El mecanismo de resistencia a betalactámicos en bacterias del género *Corynebacterium* es desconocido. No han sido descritas betalactamasas. Es posible la transferencia de genes de resistencia entre organismos del mismo género y no desde *Staphylococcus* spp. (Tauch *et al.*, 2008). Los géneros *Corynebacterium*, *Propionibacterium* y *Staphylococcus* comparten nicho ecológico (flora cutánea) y son los predominantes en número en los estudios de colonización de la piel realizados en pacientes hospitalizados, destacando el género *Corynebacterium* (el 84,7% especies lipófilas) por su multirresistencia de origen desconocido (Każmierczak y Szewczyk, 2004) y por tanto su trascendencia en las infecciones nosocomiales.

Ha sido especialmente alta la resistencia a los cuatro antibióticos betalactámicos estudiados (penicilina, ampicilina, imipenem y ertapenem) en *C. jeikeium* y *C. urealyticum* ($\geq 75\%$) coincidente con lo publicado previamente (Philippon y Bimet, 1990; Soriano *et al.*, 1998), en contraste con el 100% de sensibilidad en *C. ureicelerivorans*, otra especie lipófila de colonias de morfología semejante a ellas, y *C. aurimucosum* coincidiendo con los estudios previos frente a penicilina y cefotaxima de esta última especie (Daneshvar *et al.*, 2004). En *C. striatum*, *C. coyleae* y *C. afermentans* subsp. *afermentans* la tasa de resistencia de ampicilina ($\leq 5,3\%$) fue menor que la de penicilina ($\geq 47,4\%$), en contraste con lo observado en *C. amycolatum* (90,8% vs 84,2%), *C. jeikeium* (95,6% vs 91,3) y *C. urealyticum* (100% de resistencia en ambos). La resistencia frente a ampicilina se ha tenido en cuenta también con objeto de diferenciar *C. amycolatum* (resistente) y otras especies fermentadoras no lipófilas relacionadas como *C. striatum*, *C. minutissimum* y *C. xerosis* (sensibles). No todas las publicaciones coinciden en tasas elevadas de resistencia a ampicilina de *C. amycolatum* (Lagrou *et al.*, 1989; Renaud *et al.*, 1998; Wauters *et al.*, 1998) siendo un dato orientador pero no único, como ocurre con la sensibilidad al factor vibriostático o la producción de α GLU.

En este trabajo se aportan los resultados de la actividad de ertapenem y se compara con la de imipenem frente a 247 corinebacterias de 19 especies. *C. amycolatum* y *C. urealyticum* son las dos únicas especies en que ertapenem fue el betalactámico más activo (64,5 y 75,0% de resistencia respectivamente) y presentó mayor diferencia sobre imipenem (81,6% y 100% de resistencia respectivamente). En el resto de especies estudiadas, imipenem fue igual (*C. jeikeium*, *C. ureicelerivorans* y las 11 especies englobadas como *Corynebacterium* spp.) o más activo (*C. coyleae*, *C. afermentans* y *C. striatum*) que ertapenem. Funch *et al.*, 2001 y Goldstein *et al.*, 2001, aportan datos de 29 y 19 corinebacterias en conjunto, respectivamente, siendo solo un aislado de *C. amycolatum* en cada estudio y tres aislados de *C. urealyticum* multirresistente en Funch *et al.*, 2001, no disponiendo de datos comparativos.

Son limitadas las publicaciones en relación a la actividad de ertapenem frente a corinebacterias y, las que hay, señalan que ertapenem es activo frente a ellas, pero imipenem es más potente en todas las especies grampositivas estudiadas, siendo dirigidas fundamentalmente a *C. jeikeium* (Funch *et al.*, 1999) (rango de CMI de 0,12->16 µg/mL y CMI₉₀ de 8 µg/mL) en 10 aislados. En el presente trabajo, se observó menor actividad de ertapenem frente a 19 aislados de *C. jeikeium* (rango de CMI de 0,5->32 µg/mL y CMI₅₀ y CMI₉₀ de 32 µg/mL) y la diferencia con la actividad de imipenem fue en el rango de las CMIs (0,032->32 µg/mL), siendo igual en ambos antibióticos la CMI₅₀ y CMI₉₀ y tasa de resistencia (91,3%).

La resistencia a las quinolonas estudiadas, ciprofloxacino y moxifloxacino, fue muy alta, >90%, en tres especies: *C. urealyticum* (100% en ambas), *C. striatum* (96,7% en ambas), y *C. jeikeium* (95,6 y 91,3% ciprofloxacino y moxifloxacino respectivamente). Se han comunicado altas tasas de resistencia a quinolonas en estas especies (Soriano *et al.*, 1995; Jorgensen y Hindler, 2007), sin embargo, en otros trabajos la especie más resistente a seis quinolonas estudiadas fue *C. amycolatum* (85,5%), frente al 90% de sensibilidad (10% de resistencia) de *C. jeikeium* y *C. urealyticum*, que fueron sensibles a las mismas, siendo moxifloxacino, clinafloxacino y grepafloxacino las más activas y ciprofloxacino la menos activa frente a las tres especies (Yagüe *et al.*, 2000). En el presente estudio, las CMIs observadas en moxifloxacino han sido iguales o menores que las obtenidas frente a ciprofloxacino, aunque la diferencia de interpretación terapéutica no ha variado, excepto en dos especies donde fue mayor la actividad

de moxifloxacino que ciprofloxacino: *C. amycolatum*, de forma más acusada (42% vs 61,8%), y muy ligera diferencia en *C. jeikeium* (91,3% vs 95,6%).

Moxifloxacino ha sido descrita como más activa que ciprofloxacino y levofloxacino frente a bacterias grampositivas (Rolston *et al.*, 2003). En el presente trabajo, la tasa de resistencia a quinolonas observada en *C. amycolatum* es menor que en otros (Yagüe *et al.*, 2000), y puede deberse a que 19 de los 71 aislados procedían de 18 neonatos y su origen probable fuera a partir de colonización en el canal del parto de sus madres, mujeres jóvenes, sin patología de base ni previamente tratadas con antibióticos, y un niño de tres años que no había sido tratado antes con quinolonas.

En este trabajo, en comparación entre las especies estudiadas, *C. aurimucosum* es la especie con menor tasa de resistencia a quinolonas (6,7%), tanto frente a ciprofloxacino como a moxifloxacino, hecho anteriormente no publicado. En cinco de los 12 pacientes donde se aisló también fueron neonatos. Solo se ha referido su sensibilidad frente a levofloxacino en 16 cepas (Daneshvar *et al.*, 2004). Otras dos especies frente a las que las fluorquinolonas han demostrado ser más activas son *C. coyleae* y *C. afermentans* subsp. *afermentans*.

Moxifloxacino vs *C. urealyticum* (Soriano *et al.*, 2008) fue el antibiótico más efectivo de los estudiados (ciprofloxacino, vancomicina y eritromicina) frente a la bacteria asociada a la biopelícula, pero después de un tratamiento estándar fue insuficiente para erradicarla. Muchos aislados son resistentes a fluorquinolonas y el riesgo de mutantes resistentes es alto (Soriano *et al.*, 1995).

Aún no se ha investigado lo suficiente acerca de los mecanismos de resistencia a fluorquinolonas en el género *Corynebacterium* y otros corineformes, aunque pueden estar implicadas mutaciones de la ADN girasa (Sánchez-Hernández *et al.*, 2003) y/o bomba de eflujo (Soriano y Tauch, 2008). Por otra parte, otros mecanismos podrían estar implicados en la resistencia de *C. amycolatum* frente a moxifloxacino, ya que la misma doble mutación de aminoácidos en *gyrA* se traduce en niveles altos de resistencia frente a ciprofloxacino y levofloxacino, tanto en *C. amycolatum* como en *C. striatum*; sin embargo frente a moxifloxacino es alta en *C. amycolatum* y moderada en *C. striatum* (Sierra *et al.*, 2005).

En contraste con la continuidad de sensibilidad de las corinebacterias a vancomicina en el transcurso del tiempo, en las quinolonas se ha ido observando progresivamente un

incremento de la resistencia paralelo al de su consumo a partir del final de los años 80. Así, en 1985, el 100% de *C. urealyticum* (30 aislados) eran sensibles tanto a norfloxacino como vancomicina (Santamaría *et al.*, 1985), y posteriormente fue observado este cambio con incremento de resistencia a quinolonas (Soriano *et al.*, 1989), alcanzando posteriormente una CMI₉₀ de ciprofloxacino frente a *C. urealyticum* de 32 µg/mL (Soriano *et al.*, 1995) y de levofloxacino de 16 µg/mL (Soriano *et al.*, 1998). Se ha mantenido la tendencia ascendente en las especies multirresistentes ya conocidas donde ya se reconocía su prevalencia tanto a nivel nacional como internacional (Philippon y Bimet, 1990; Fernández-Natal *et al.*, 2001; Sierra *et al.*, 2005; Jorgensen y Hindler, 2007).

Gentamicina presentó bajas tasas de resistencia en general, excepto en especies multirresistentes como *C. urealyticum* (87,5%, la más alta) portador del gen *aphA* (Tauch *et al.*, 2008) y *C. jeikeium* (78,3%), hecho coincidente con otras publicaciones que destacan la baja actividad de este antibiótico frente a estas dos especies citadas (Soriano *et al.*, 1995; Salas *et al.*, 2008), y contrastan los resultados obtenidos en este trabajo frente a *C. striatum* (36,4%) y *C. amycolatum* (3,9%), con el 14,0% y 65,0%, respectivamente, en Salas *et al.*, 2008.

Todos los aislados de *C. coyleae*, *C. afermentans* subsp. *afermentans*, *C. aurimucosum* y *C. ureicelerivorans* fueron sensibles a gentamicina. En *C. freneyi* también es destacable la sensibilidad a gentamicina, como ya se ha descrito previamente en mayor número de aislados (Funke y Frodl, 2008). Por tanto, el uso de gentamicina, sola o en combinación con otros antibióticos, podría estar indicada en el tratamiento empírico de las infecciones por los aislados aquí estudiados, excepto *C. jeikeium*, *C. urealyticum* y *C. striatum*. Prueba de ello es que en este trabajo, 18 de los 71 aislados de *C. amycolatum* procedieron de bacteriemias neonatales, todos fueron al menos sensibles a gentamicina y tuvieron buena evolución clínica, al estar protocolizado el tratamiento empírico combinado de ampicilina y gentamicina en neonatos con rotura prematura de membranas ≥18 h, precedido por la toma de muestra de sangre y cultivos de colonización (exudados faríngeo y ótico, vermix y meconio).

La mayoría de los aislados fueron sensibles a rifampicina, observando la mayor tasa de resistencia en *C. striatum* (87,9%), datos que coinciden con publicaciones previas (Soriano *et al.*, 1995, Soriano *et al.*, 1998).

Tetraciclina fue activa frente a todos los aislados de tres especies: *C. coyleae*, *C. aurimucosum* y *C. ureicelerivorans*. La tasa de resistencia más elevada se observó frente a *C. amycolatum* (53%), seguida de *C. striatum* y *C. urealyticum* (24,2 y 25% respectivamente). Por el contrario, otros autores han publicado una tasa de resistencia de 16 cepas de *C. aurimucosum* frente a tetraciclina del 25% (Daneshvar *et al.*, 2004) y coinciden con los resultados de otros autores en la sensibilidad de *C. coyleae* (Fernández-Natal *et al.*, 2008) y resistencia encontrada en las otras tres especies frente a doxiciclina, señalando la mayor actividad de la tetraciclina (Soriano *et al.*, 1995; Soriano *et al.*, 1998). La resistencia a tetraciclinas suele estar asociada a bomba de eflujo mediada por los genes *tetA-tetB* (Soriano y Tauch, 2008).

La actividad de antibióticos del grupo MLS_B y ketólidos frente a corinebacterias tiene especial interés, tanto por los cambios en cuanto a su actividad como por la aparición de nuevas moléculas con el transcurso del tiempo. En cuanto a los macrólidos, a principios de los años 80, aunque era limitada la información disponible de la sensibilidad antibiótica de las corinebacterias, eritromicina fue sugerida como antibiótico de elección en el tratamiento de infecciones por todas las corinebacterias excepto *C. jeikeium* (Lipsky *et al.*, 1982). Progresivamente se ha ido comunicando el incremento de resistencias a macrólidos (Soriano *et al.* 1995; Funke *et al.*, 1996; Soriano *et al.*, 1998; Martínez-Martínez *et al.*, 1998; Yagüe *et al.*, 2005) porque al igual que ha ocurrido con el incremento de resistencias a quinolonas paralelo a su consumo, la eritromicina induce resistencias (Soriano *et al.*, 2008).

Todos los aislados presentaron tasas elevadas de resistencia a los macrólidos estudiados: eritromicina, claritromicina, azitromicina y espiramicina. La más baja correspondió a *C. striatum* frente a claritromicina (45,4%) y la más alta a *C. jeikeium* con 100% de resistencia a todos ellos.

C. aurimucosum y *C. ureicelerivorans* (Fernández-Natal *et al.*, 2008) presentaron alta resistencia focalizada a antibióticos del grupo MLS_B.

Los porcentajes de resistencia a azitromicina fueron superiores o iguales a los de eritromicina de modo constante en todas las especies estudiadas, excepto frente a *C. coyleae*, en que eritromicina fue el macrólido menos activo (88,9% vs 92,6% de resistencia a azitromicina y eritromicina respectivamente) y la tasa de resistencia a clindamicina fue muy

elevada (96,3%) (Fernández-Natal *et al.*, 2008). Otros autores han observado que azitromicina fue el macrólido menos activo (Soriano *et al.*, 1995; Martínez-Martínez *et al.*, 1998).

Los porcentajes de resistencia a claritromicina fueron inferiores o iguales a los de eritromicina en las ocho especies estudiadas con número de aislados ≥ 8 , pero sin significación estadística por el tamaño pequeño de la muestra. Claritromicina como macrólido más activo de los estudiados fue observado en: *C. coyleae*, donde la diferencia en las tasas de resistencia fue más marcada respecto a eritromicina (74,1% y 92,6% respectivamente), *C. aurimucosum*, *C. afermentans* subsp. *afermentans*, *C. striatum* y ligeramente en *C. amycolatum*. Este hecho no ha sido publicado en *C. aurimucosum* y *C. afermentans* subsp. *afermentans*, pero sí en *C. coyleae* (Fernández-Natal *et al.*, 2008), *C. striatum*, *C. amycolatum* y *C. minutissimum* (Martínez-Martínez *et al.*, 1998). La mayor actividad de claritromicina que otros macrólidos frente a especies del género *Corynebacterium* ya ha sido descrita (Soriano *et al.*, 1998; Martínez-Martínez *et al.*, 1998), así como que azitromicina fue el macrólido menos activo (100% de resistencia al igual que clindamicina) (Martínez-Martínez *et al.*, 1998). Goldstein *et al.*, 1998, observaron mayor actividad de claritromicina que azitromicina.

La resistencia a los macrólidos suele estar asociada a una metiltransferasa gobernada por el gen *erm*(X) (Soriano y Tauch, 2008).

Los porcentajes elevados de resistencia a clindamicina estuvieron comprendidos entre 62,5% en *C. urealyticum* y >94% en *C. jeikeium*, *C. coyleae* y *C. afermentans* subsp. *afermentans*. Ya se ha descrito repetidamente la alta tasa de resistencia de las diferentes especies del género *Corynebacterium* frente a clindamicina, con menor actividad que los macrólidos, (Soriano *et al.*, 1995; Martínez-Martínez *et al.*, 1998) y en particular en algunas especies, como *C. coyleae* (Funke *et al.*, 1997a; Fernández-Natal *et al.*, 2008).

La concomitancia de i) mayor porcentaje de resistencia a clindamicina que a macrólidos, y ii) claritromicina como macrólido más activo, se observó en tres especies: *C. aurimucosum*, *C. coyleae* y *C. striatum*, más marcada en esta última especie.

Quinupristina/dalfopristina (estreptogramina) es la combinación de dos derivados semisintéticos de la pristinamicina que ha mostrado ser activo frente a corinebacterias (Steel *et al.*, 1997; Soriano *et al.*, 1998; Sánchez-Hernández *et al.*, 2003) y una alternativa terapéutica en infecciones graves por especies multirresistentes (*C. jeikeium*, *C. amycolatum* y *C.*

urealyticum) en caso de contraindicación de otros antibióticos (Funke y Troxler, 2005). Este estudio presenta los resultados de este antibiótico frente a 19 especies del género *Corynebacterium*. Destacó la ausencia de resistencia frente a *C. urealyticum*, coincidente con otros estudios (Soriano *et al.*, 1998; Sánchez-Hernández *et al.*, 2003; Funke y Troxler, 2005) y la alta tasa de resistencia en *C. ureicelerivorans* (87,5%), y mismo porcentaje de resistencia frente al resto de antibióticos del grupo MLS_B, excepto pristinamicina (62,5%), siendo ligeramente más activa que quinupristina/dalfopristina. Telitromicina fue activa frente a todos los aislados. Excepto el 50,0% de resistencia a fluorquinolonas, el resto de antibióticos estudiados fueron activos (Fernández-Natal *et al.*, 2008). En el trabajo de Funke y Troxler, 2005, por razón desconocida, *C. minutissimum* (20 aislados) fue la especie con CMI más alta (rango de 0,06-2, CMI₅₀ de 0,5 y CMI₉₀ de 1 µg/mL), En este estudio son cuatro los aislados de *C. minutissimum*, número insuficiente para evaluar. Se aportan resultados de *C. aurimucosum* frente a este antibiótico, siendo del 20% la tasa de resistencia, destacando la resistencia a antibióticos del grupo MLS_B en esta especie casi en exclusiva.

Otras dos especies con tasa alta de resistencia frente a quinupristina/dalfopristina fueron *C. jeikeium* y *C. coyleae* (47,8% y 48,1% resistentes de alto y bajo nivel respectivamente). *C. jeikeium*, una de las especies más estudiadas frente a este antimicrobiano, presentó un rango de CMI de 0,094->32 µg/mL en este trabajo, a diferencia de otros autores con resultados de 100% de sensibilidad y rangos de ≤0,1-0,4 µg/mL (Steel *et al.*, 1997), de 0,5-0,5µg/mL (Goldstein *et al.*, 2003) y de 0,12-1 µg/mL (Funke y Troxler, 2005). Ligeramente más altos que estos últimos pero más bajos que los del presente estudio, fueron los de Soriano *et al.*, 1998, con un rango de 0,25-2µg/mL. La razón del hallazgo de CMI más altas de Funke y Troxler, 2005 que Steel *et al.*, 1997, es el planteamiento de la correcta caracterización de *C. jeikeium* y la conveniencia de diferenciarlo de *Corynebacterium* gr G. Otros estudios recogen la buena actividad, semejante a linezolid, frente a todos las corinebacterias estudiadas excepto en tres aislados de *C. jeikeium* y uno de *C. amycolatum* con CMI ≥4, siendo la CMI más alta de 8 µg/mL en un aislado de *C. jeikeium* (Sánchez-Hernández *et al.*, 2003).

La actividad de quinupristina/dalfopristina frente a 27 aislados de *C. coyleae* fue menor (rango de CMIs de 0,38->32 µg/mL ; CMI₅₀ de 1 y CMI₉₀ de 2 µg/mL) que en otros estudios con 10 aislados procedentes de muestras clínicas sin especificar (Funke y Troxler, 2005) (rango de

CMI_s 0,03–1 µg/mL; CMI₅₀ de 0,25 y CMI₉₀ de 1 µg/mL) y 14 aislados de 12 pacientes, procedentes de sangre (seis bacteriemias neonatales), líquido ascítico, concentrado de hematíes e infección de partes blandas, con 41,7% de resistencia, rango de CMI_s 0,38 – >32 µg/mL; CMI₅₀ de 0,75 y CMI₉₀ >32 µg/mL (Fernández-Natal *et al.*, 2008).

Pristinamicina, como se observó en quinupristina/dalfopristina, fue activa frente a todos los aislados de *C. urealyticum* y con tasa muy baja de resistencia en *C. striatum* (6,1%), en contraposición a los más elevados en *C. jeikeium* (43,5%) y *C. ureicelerivorans* (62,5%), aún siendo en esta última especie el antibiótico del grupo MLS_B más activo.

Las mayores diferencias en tasas de resistencia entre quinupristina/dalfopristina y pristinamicina se observaron, respectivamente, en *C. ureicelerivorans* (87,5% y 62,5%) y en *C. aurimucosum* (20,0% y 53,3%). No hay referencias a este hecho. Se sugiere que sea debido a que son diferentes pristinamicinas: quinupristina/dalfopristina, derivados de pristinamicina I_A e I_B respectivamente, y pristinamicina está compuesta por ambas.

El fenotipo de resistencia predominante a antibióticos del grupo MLS_B fue el constitutivo (85,8%) seguido del fenotipo M (6,6%) y MLS_B inducible (1,9%). Se detectó el gen *erm*(X) en el 94,6% de los aislados con fenotipo MLS_B y en el 50% con fenotipo indeterminado y ninguno de los 130 aislados estudiados poseía el gen *mef*(A)(E). Otros autores han detectado el gen *erm*(X) en la mayoría de los aislados estudiados resistentes a eritromicina de las especies *C. jeikeium* y *C. amycolatum* (Yagüe *et al.*, 2005), *C. striatum*, *C. afermentans* subsp. *afermentans*, *C. urealyticum* (en una cepa concomitante con el gen *erm*(B)) *C. aurimucosum* y *C. coyleae* (Fernández-Roblas *et al.*, 2006; Fernández-Natal *et al.*, 2006; Fernández Natal *et al.*, 2008).

Otros mecanismos de resistencia pueden estar involucrados ya que no se detectó ninguno de los dos genes estudiados en 15 aislados: siete (6,6%) con fenotipo M, cinco (5,4%) con fenotipo MLS_B, cuatro constitutivos (2 *C. amycolatum*, 1 *C. striatum* y 1 *C. xerosis*) y uno inducible (*C. freneyi*), y tres de los seis aislados con fenotipo indeterminado (clindamicina resistentes y eritromicina y claritromicina sensibles). Esta observación acerca de la resistencia a antibióticos del grupo MLS_B por mecanismos indeterminados, no bien definidos, ya ha sido aportada previamente por otros autores (Soriano *et al.*, 1998).

Los tres aislados con fenotipo indeterminado que no poseían el gen *erm(X)*, fueron sensibles a azitromicina pero resistentes a pristinamicina. Este hecho podría ser debido a inactivación o impermeabilidad. Ya se ha descrito en microorganismos de origen animal un nuevo fenotipo de resistencia a lincosaminas y sensibilidad a macrólidos, debido a degradación o inactivación de lincomicina y clindamicina, pero no han sido investigadas. Devriese, en 1980, describió en *S. aureus* (aislado de pollos) y *Staphylococcus intermedius* (en perro) la resistencia de alto nivel a lincomicina y marginalmente alto a clindamicina, concomitante a la sensibilidad a macrólidos y estreptograminas, y Leclercq *et al.*, 1991 en *S. aureus* y *Lactobacillus* resistentes a lincosaminas. Sin embargo, en humanos, se ha descrito alta resistencia a lincomicina (64 µg/mL) por inactivación (gen *linA* y *linA'*) y sensibilidad a macrólidos y clindamicina en *S. haemolyticus* BM4610 (Leclercq *et al.*, 1987). Recientemente se ha descrito en *Streptococcus uberis* UCN60 (productor de mastitis bovina) la resistencia a espiramicina, por inactivación mediada por el gen *mph(B)* (solo se ha descrito en bacterias Gramnegativas) y el gen *rdmC-like*, y sensibilidad a eritromicina, azitromicina, josamicina y tilosina (macrólido de uso veterinario) (Achard *et al.*, 2008).

Por otra parte, de los tres aislados restantes con fenotipo indeterminado portadores del gen *erm(X)*, el nivel de resistencia a clindamicina fue alto (>256 µg/mL) en dos de ellos, correspondientes a un *C. striatum* aislado de una úlcera cutánea vascular donde no se objetivó ninguna otra resistencia al resto de antibióticos del grupo MLS_B, y un *C. aurimucosum* aislado de una IRC coincidiendo con niveles marginalmente altos frente a azitromicina y espiramicina. Solo uno de los cuatro aislados con resistencia intermedia (CMI= 1-2 µg/mL) poseía dicho gen, tratándose del único *C. amycolatum* αGLU-positiva. En *C. aurimucosum* ya se han descrito cuatro cepas clindamicina–resistentes (>2µg/mL) y eritromicina–sensibles (0,5 µg/mL) (Daneshvar *et al.*, 2004).

La resistencia a telitromicina (ketólido) se detectó únicamente en 11 aislados cMLS_B que poseían el gen *erm(X)*, predominando en *C. striatum* (5), coincidiendo con lo publicado por Soriano *et al.*, 1998, y discrepando de Martínez-Martínez *et al.*, 1998, que apuntan la posibilidad de que esta diferencia sea debida al tiempo de incubación (20 h en vez de 48 h, por no tratarse de una bacteria exigente). Telitromicina fue activa frente a 76 (83,5%) de los 91 aislados con fenotipo cMLS_B, pudiendo ser una buena opción terapéutica en corinebacterias resistentes a

macrólidos (Goldstein *et al.*, 1998; Yagüe *et al.*, 2005) con este fenotipo y genotipo (83,5% de sensibilidad) coincidiendo con resultados de otros autores que lo han estudiado frente a tres especies multirresistentes (*C. amycolatum*, *C. jeikeium* y *C. urealyticum*) (Martínez- Martínez *et al.*, 1998; Sánchez-Hernández *et al.*, 2003).

A diferencia de otras publicaciones (Soriano *et al.*, 1998; Sánchez-Hernández *et al.*, 2003; Yagüe *et al.*, 2005), en este estudio no se observó resistencia de telitromicina frente a *C. jeikeium* y *C. urealyticum*. Se aportan resultados de actividad de este antibiótico frente a especies que no se habían estudiado previamente: resistencia en tres de los 15 cepas de *C. aurimucosum* aislados de 12 pacientes, segunda especie más resistente a telitromicina después de *C. striatum* (Soriano *et al.*, 1998). De los 106 aislados con resistencia al grupo MLS_B, 87 (82,1%) presentaron fenotipo constitutivo y se detectó el gen *erm(X)* (cMLS_B / *erm(X)*⁺).

Contrastan los resultados obtenidos, frente a los antibióticos expuestos, entre *C. amycolatum* y *C. striatum*: resistencia a betalactámicos y sensibilidad a gentamicina y rifampicina de *C. amycolatum* y a la inversa en *C. striatum*, con marcada sensibilidad a betalactámicos (>85%), especialmente ampicilina e imipenem (97%). Coinciden en la resistencia a fluorquinolonas, aunque más marcada en *C. striatum* (96,7%, segunda especie más resistente después de *C. urealyticum* (100%)), al grupo macrólidos-clindamicina, y sensibilidad en ambas a quinupristina/dalfopristina.

El ácido fusídico se mostró muy activo frente a la mayoría de las corinebacterias estudiadas. La mayor tasa de resistencia (aproximadamente 21%) se observó en *C. afermentans* subsp. *afermentans* y *C. striatum*, pero para el resto de las especies no sobrepasó el 10%. Ha sido referido como antibiótico activo frente a la mayoría de bacterias, tanto del género *Corynebacterium* como otros corineformes, excepto algunas cepas resistentes de *C. jeikeium* (Soriano *et al.*, 1995) y activo frente a todos los aislados de *C. urealyticum* y *C. jeikeium*, con CMI más bajas frente a *C. urealyticum* (Philippon y Bimet, 1990).

La resistencia a cloranfenicol fue observada en el 100% de los aislados de *C. urealyticum* y alrededor del 60% de *C. amycolatum* y *C. striatum*. Por el contrario, el 100% de *C. ureicelerivorans* y el 91,3% de *C. jeikeium* fueron sensibles. *C. urealyticum* contiene genes *cmx1* y *cmx2* que le confieren resistencia a cloranfenicol, idénticos a los de *C. striatum*

(Soriano, 2009). La resistencia frente a 15 aislados de *C. aurimucosum* (26,7%) fue superior a la referida previamente por otros autores (12,5%) en 16 aislados (Daneshvar *et al.*, 2004).

Todos los aislados fueron resistentes a fosfomicina, como ya se ha publicado (Soriano *et al.*, 1995), y se ha propuesto como componente de un medio selectivo de cultivo para aislamiento de *C. urealyticum* en muestras de orina, no recomendado para su uso en la rutina (Soriano *et al.*, 1994) aunque sí puede ser útil con fines epidemiológicos en muestras de orina y de colonización de piel (Zapardiel *et al.*, 1998).

Los 247 aislados del género *Corynebacterium* fueron sensibles a vancomicina (<2 µg/mL) y linezolid (<1 µg/mL), como en otros trabajos previos (Soriano *et al.*, 1998; Funke y Nietznik, 2005; Gómez-Garcés, 2007).

La sensibilidad a vancomicina en todas las corinebacterias estudiadas es coincidente con los resultados de trabajos publicados previamente por otros autores (Soriano *et al.*, 1998; Janda, 1999; Goldstein *et al.*, 2003; Sánchez-Hernández *et al.*, 2003; Funke y Bernard, 2007). Ha sido considerada activa universalmente, sin observar variaciones con el paso del tiempo, frente a bacterias corineformes, con excepción de *Microbacterium resistens* y *Leifsonia aquatica*, que presentan resistencia de alto y bajo nivel respectivamente (Jorgensen y Hindler, 2007). Hasta la aparición de alternativas terapéuticas como linezolid, vancomicina ha sido y sigue siendo el antibiótico recomendado en el tratamiento empírico de infecciones graves por Grampositivos, incluyendo corineformes, hasta que se disponga de información de las pruebas de sensibilidad (Soriano *et al.*, 1995) y es la única opción terapéutica en algunos casos de aislados multirresistentes, como *C. urealyticum* y *C. jeikeium* (Philippon y Bimet, 1990; Riegel *et al.*, 1996a; Soriano *et al.*, 1998; Janda, 1999; Jorgensen y Hindler, 2007; Funke y Bernard, 2007). alguna publicación recoge valores inferiores de CMI de vancomicina en todas las corinebacterias estudiadas, como <1 µg/mL (Babay *et al.* 2004) o <0,5 µg/mL, a excepción de *C. xerosis*, con rango entre 0,25 y 2 µg/mL (Soriano *et al.*, 1995), no considerando los valores del grupo identificado como *Corynebacterium* spp. al estar incluido *C. aquaticum*, actualmente *Leifsonia aquatica* (Evtushenko *et al.*, 2000) con sensibilidad disminuída a vancomicina (Jorgensen y Hindler, 2007). En este trabajo, las CMIs más elevadas a vancomicina fueron observadas en un aislado de *C. urealyticum* y otro de *C. simulans* (1 µg/mL en ambas) y en un

aislado del grupo de corinebacterias caracterizadas como *Corynebacterium* sp. (1,5 µg/mL), pendiente de caracterización definitiva.

Hay datos en la literatura que avalan la actividad de teicoplanina frente a corinebacterias, siendo similar a la de vancomicina (Philippon y Bimet, 1990; Fernández-Natal *et al.*, 1992; Soriano *et al.*, 1998; Fernández-Natal *et al.* 2001; Sánchez–Hernández *et al.*, 2003).

De forma global, *C. aurimucosum*, *C. ureicelerivorans*, *C. coyleae* y *C. afermentans* subsp. *afermentans* fueron las especies más sensibles a los antibióticos. Por el contrario, se observó multirresistencia o resistencia al menos a tres antibióticos en *C. amycolatum*, *C. jeikeium*, *C. urealyticum* y *C. striatum*. Este rasgo de multirresistencia ya ha sido reconocido de manera exhaustiva como un rasgo fenotípico más a tener en cuenta en la instauración de tratamiento empírico y en la identificación de estas especies. Ha sido ampliamente reconocida la multirresistencia de *C. amycolatum* (Riegel *et al.*, 1996; Wauters *et al.*, 1998; Esteban *et al.*, 1999; Sánchez-Hernández *et al.*, 2003; Jorgensen y Hindler, 2007). Posiblemente los aislados caracterizados como *C. xerosis* multirresistentes referidos en la literatura hasta finales de los años 90 se trataran en realidad de *C. amycolatum* (Funke *et al.*, 1996a; Funke *et al.*, 1997e; Esteban *et al.*, 1999). El nivel de resistencia antibiótica de *C. amycolatum* es más bajo en animales (mastitis bovina) que en humanos, lo que podría estar relacionado con la presión selectiva de tratamientos previos (Watts y Rossbach, 2000).

C. jeikeium y *C. urealyticum* comparten, además de la lipofilia, su aislamiento en pacientes inmunocomprometidos y en ambiente hospitalario, así como el rasgo frecuente de la multirresistencia ampliamente descrito en la literatura (Philippon y Bimet, 1990; Soriano *et al.*, 1995; Soriano *et al.*, 1998, Janda, 1999; Fernández-Natal *et al.*, 2001; Sánchez-Hernández *et al.*, 2003; Funke y Bernard, 2007; Jorgensen y Hindler, 2007). Con la secuenciación completa del genoma de *C. urealyticum* (cepa DSM 7109^T) se ha podido explicar este comportamiento frente a los antibióticos (Tauch *et al.*, 2008; Soriano y Tauch, 2008; Soriano, 2009), detectándose genes de resistencia a antibióticos: *erm*(X) (macrólidos, lincosaminas y ketólidos), *cmx* (cloranfenicol), *tetAB* (tetraciclina), *strAB* (estreptomicina) y *aphA* (otros aminoglucósidos). Como excepción, se observó multisensibilidad en dos aislados de *C. urealyticum*, hecho ya constatado por otros autores (Notario *et al.*, 1996; Funke *et al.*, 1997e; Zapardiel *et al.*, 1997), como también está descrito que los genotipos C y D de *C. jeikeium* no

expresan el fenotipo de multirresistencia (Riegel *et al.*, 1994), aunque en este estudio los 19 aislados fueron multirresistentes, y por tanto corresponderían a los genotipos A y/o B.

En cuanto a *C. striatum*, dos hechos relacionados lo hacen destacar como patógeno emergente: el incremento de aislados con carácter de multirresistencia y el ámbito nosocomial de las infecciones que produce. En este trabajo, es destacable la multirresistencia observada en los 33 aislados de *C. striatum*. Desde 1980, en que se describió el primer caso de infección pulmonar por *C. striatum* en un paciente inmunocomprometido (Bowstead y Santiago, 1980), se han ido sumando numerosas publicaciones en relación a su aislamiento en muy diversas muestras clínicas humanas, sobre todo en sangre y muestras respiratorias, y en su mayoría en pacientes graves e inmunocomprometidos, pero también en inmunocompetentes en relación con técnicas de manipulación médica e implantación de cuerpos extraños (Weiss *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 2005). En los últimos años, *C. striatum* se ha significado por la multirresistencia antibiótica (fluorquinolonas, tetraciclina y grupo MLS_B) (Sánchez-Hernández *et al.*, 2003; Soriano *et al.*, 1998; Tarr *et al.*, 2003; Otsuka *et al.*, 2006; Jorgensen y Hindler, 2007), incluso con CMI's más elevadas que otras especies del género *Corynebacterium* frente a nuevas alternativas terapéuticas, como tigeciclina (Salas *et al.*, 2008). Este hecho tiene importantes repercusiones tanto en la elección del tratamiento empírico, decisión/necesidad de retirada de cuerpos extraños (catéteres, prótesis), y evolución de los pacientes, como del posible riesgo de expansión de estas cepas en el ámbito hospitalario (repercusión en el control de la infección nosocomial) (Peiris *et al.*, 1994; Otsuka *et al.*, 2006), donde se ha descrito la transmisión persona-persona (Leonard *et al.*, 1994) y la necesidad de establecer medidas de barrera.

La multirresistencia antibiótica u otras causas como alergia o intolerancia al antibiótico de elección, hacen necesarias alternativas terapéuticas en las especies mencionadas. El resultado de la actividad de una de esas alternativas, linezolidina (oxazolidinona), frente a todos los aislados estudiados en este trabajo (CMI <1 µg/mL), coincide con otras publicaciones con CMI's de ≤0,125-2 µg/mL en 265 aislados pertenecientes a 15 especies (Funke y Nietznik, 2005), con CMI₉₀ para tres especies que pueden ser multirresistentes, *C. amycolatum* (0,2 µg/mL), *C. urealyticum* (0,5 µg/mL), *C. jeikeium* (1 µg/mL) (Sánchez-Hernández *et al.*, 2003), y otros trabajos que demuestran la actividad de este antibiótico bacteriostático con eficacia igual o superior a los glicopéptidos frente a 130 corinebacterias pertenecientes a cuatro especies con

actividad más acentuada frente a *C. amycolatum* y *C. striatum* que frente a *C. jeikeium* y *C. urealyticum* (Gómez Garcés *et al.*, 2007), siendo una alternativa en el tratamiento de infecciones graves por corinebacterias, pero teniendo en cuenta que el incremento de su uso en infecciones graves por grampositivos puede dar lugar a presión selectiva con aparición de resistencias.

Otras nuevas moléculas antibióticas probadas más recientemente han mostrando buena actividad frente a corinebacterias: i) Daptomicina (lipopéptido) ha sido propuesto como alternativa en tratamiento de infecciones por Grampositivos resistentes o pacientes intolerantes a vancomicina y linezolida (Goldstein *et al.*, 2003; Shah y Murillo, 2005). ii) Tigeciclina (gliciliciclina), aprobada para uso parenteral en infecciones graves intraabdominales y de piel y tejidos blandos, ha sido activa frente a 174 corinebacterias pertenecientes a siete especies (*C. amycolatum*, *C. striatum*, *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. minutissimum* y *C. xerosis*), siendo inhibidas por 0,5 µg/mL, excepto 11 aislados de *C. striatum* que lo fueron por 1 µg/mL (Salas *et al.*, 2008). Al no estar incluido en el documento M45-A de CLSI, 2007, se aplicó el punto de corte de FDA para estafilococos de 0,5 µg/mL (Salas *et al.*, 2008) y se destaca la importancia que tiene el medio utilizado en los resultados de las CMIs, observando valores más bajos en medio no suplementado (caldo BH) que en el suplementado (caldo BH con sangre) como recomienda el M45-A. Se han descrito diferencias entre la actividad *in vitro* de tigeciclina y tetraciclinas frente a corinebacterias, observando sensibilidad frente a tigeciclina en aislados resistentes frente a tetraciclina, como *C. urealyticum* con 12% de resistencia a tetraciclina y todas sensibles a tigeciclina (Salas *et al.*, 2008). Se han publicado pocos estudios en relación a los mecanismos de resistencia a tetraciclinas en bacterias del género *Corynebacterium*. El gen *tetM* es frecuente en *C. striatum* aislado de muestras clínicas (Roberts *et al.*, 1992) y se han detectado genes *tetAB* en *C. striatum* (Tauch *et al.*, 1999), y *C. urealyticum* (Tauch *et al.*, 2008), pero se desconoce la capacidad de tigeciclina de escapar a los mecanismos de resistencia a tetraciclinas en estas bacterias.

5.2. DATOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS

Otro de los objetivos planteados en este estudio ha sido el conocimiento del significado clínico de los microorganismos corineformes en general y del género *Corynebacterium* en particular. Después de décadas de confusión acerca del significado clínico de las corinebacterias distintas a *C. diphtheriae*, se han reconocido como importantes patógenos emergentes, involucradas en patologías infecciosas muy diversas y que pueden afectar a pacientes previamente sanos o inmunocomprometidos (Lipsky *et al.*, 1982). Es posible establecer asociación de algunas especies con determinadas patologías y el estudio de sensibilidad antimicrobiana permitirá aplicar la terapia adecuada.

La significación clínica del género *Corynebacterium* es frecuentemente cuestionable (Funke *et al.*, 1997e). Deberá tratarse de un proceso de valoración global, teniendo en cuenta tanto los aspectos microbiológicos como clínicos.

a) Factores de riesgo

Los factores de riesgo observados en los pacientes hospitalizados donde se han aislado estas bacterias han sido las edades extremas, patología neoplásica, cronicidad, tratamientos inmunosupresores, aplicación de técnicas diagnósticas o terapéuticas cruentas, implantación de material protésico, hospitalización frecuente o prolongada y antibioticoterapia previa. Los 300 aislados corineformes estudiados procedieron de 431 muestras clínicas de 270 pacientes, de ellos 221 adultos y 49 pediátricos.

Los 247 aislados del género *Corynebacterium* se recuperaron de 346 muestras clínicas obtenidas de 218 pacientes hospitalizados, del sexo masculino el 61,5%, 172 adultos (78,9%) y 46 pediátricos (21,1%), con edad media de 51 años y rango de 0 a 91 años.

b) Especies según sexo y edad

Con respecto al sexo, la distribución de las especies identificadas en número ≥ 6 pacientes (≥ 8 aislados), muestra diferencias estadísticamente significativas (p : 0,025), con porcentaje superior al 75% en los pacientes varones en las especies: *C. striatum* (82,1%), *C.*

jeikeium (78,9%) y *C. aurimucosum* (75%), mientras que en las mujeres el más frecuente fue *C. urealyticum* (75%). Ya ha sido publicado el predominio del sexo masculino de los pacientes en relación al aislamiento de *C. striatum* (Weiss *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 2005) y *C. jeikeium* (Soriano *et al.*, 1988a) pero no en *C. aurimucosum*, que, en las reducidas referencias a la clínica, la de mayor número de casos recopila 16 aislados, la mayoría mujeres, y, en otra serie, seis de ocho casos también fueron mujeres (Roux *et al.*, 2004). Sí es coincidente con lo publicado el predominio de *C. urealyticum* en muestras clínicas de mujeres (Soriano *et al.*, 1988). *C. amycolatum* ha sido la especie predominante en el sexo femenino en el trabajo de Belmares *et al.*, 2007, donde se analizaron los factores de riesgo de endocarditis por corinebacterias. Sin embargo, en este estudio no se observó predominio en ese sentido (42,3%).

Con respecto a la edad, la distribución de las especies identificadas en número ≥ 6 pacientes (≥ 8 aislados), muestra diferencias estadísticamente significativas ($p: 0,005$), con porcentaje superior al 80% en pacientes adultos (edad ≥ 14 años) en las especies: *C. jeikeium* (100%), *C. ureicelerivorans* (100%), *C. striatum* (89,3%), *C. urealyticum* (87,5%). Las edades medias extremas se observaron en *C. striatum* (61 años) y *C. aurimucosum* (26,1 años). Ya se ha descrito el predominio en adultos de *C. striatum* (Lee *et al.*, 2005), pero también en pacientes pediátricos oncológicos (Adderson *et al.*, 2008). *C. aurimucosum*, aunque no se ha indicado la edad, se ha aislado preferentemente de muestras genitourinarias en mujeres en edad fértil, relacionadas con el embarazo (Daneshvar *et al.*, 2004) y en una serie de ocho aislados a partir de muestras osteoarticulares, la edad media fue de 58,1 años (Roux *et al.*, 2004).

En pacientes pediátricos se identificaron 10 especies del género *Corynebacterium*; los más frecuentes fueron *C. coyleae* (45,8%), *C. aurimucosum* (41,7%) y *C. amycolatum* (26,8%). Este trabajo aporta una muestra amplia de pacientes pediátricos (46), 38 de ellos neonatos y ocho no neonatos entre dos y 13 años, donde se recuperaron 48 corinebacterias y con mayor diversidad de especies caracterizadas fenotípicamente y genotípicamente, recuperadas de 47 muestras clínicas (46 de sangre y una de LCR).

Las infecciones por *Corynebacterium* spp. son patología pediátrica rara. Las referencias bibliográficas no son frecuentes, y predominan los casos aislados o series cortas. *C.*

urealyticum, aún dentro de la rareza, se ha descrito en relación con patología urológica: un caso de cistitis incrustante (Soriano *et al.*, 1985), tres ITU (Comam *et al.*, 1998), una pielonefritis en niño trasplantado renal (Mendizábal *et al.*, 2005), y cuatro casos de cistitis y pielitis incrustada, siendo un caso trasplantado renal que evolucionó hacia pérdida del riñón (Mena *et al.*, 2005). En este trabajo se presenta un caso de bacteriemia pediátrica sin origen urológico por *C. urealyticum* multisensible a antibióticos en niño de 9 años que ingresó en el hospital por gastroenteritis aguda severa. La significación clínica fue indeterminada por tratarse de muestra única de sangre. No se ha recogido ningún otro caso pediátrico de estas características.

Otros casos aislados publicados han sido sepsis neonatal por *C. xerosis* (Robins y Haile-Selassie, 2001; Cattani *et al.*, 2008), sepsis fatal en prematuro por *C. amycolatum* (Berner *et al.*, 1997), pielonefritis por *C. minutissimum* (Dalal y Likhi, 2008), endocarditis (Belko *et al.*, 2000) y artritis (Afghani y Stutman, 1993) por *C. diphtheriae*.

Adderson *et al.*, 2008, recogieron, en una serie de 16 casos de niños portadores de catéteres vasculares centrales con terapia oncológica, 12 bacteriemias y cinco infecciones de tejidos blandos, señalando que la epidemiología y clínica de las infecciones por corineformes en niños inmunocomprometidos difiere de lo publicado en adultos. Sin embargo, la especie más frecuente fue *C. striatum* (cuatro en sangre) hecho que también se observa de forma destacada en adultos inmunodeprimidos portadores de catéteres vasculares y en sangre. El segundo en frecuencia fue *C. amycolatum* (tres en sangre), lo que contrasta con los resultados de este estudio, la más frecuente, aunque ambos estudios difieren en las condiciones de base de los niños, no oncológicos y de predominio neonatos frente a oncológicos.

Predominaron las bacteriemias neonatales por corinebacterias (38). Fueron producidas por seis especies. Las dos más frecuentes fueron *C. amycolatum* (18) y *C. coyleae* (11), ambas fueron origen de la única bacteriemia mixta por dos corinebacterias en un caso de conjuntivitis neonatal, y ya se han publicado casos previamente (Berner *et al.*, 1997; Fernández-Natal *et al.*, 2008). Sin embargo, se describen en nuestro trabajo por primera vez bacteriemias neonatales por las cuatro especies restantes: *C. aurimucosum* (5), *C. minutissimum* (2), *C. afermentans* subsp. *afermentans* (2) y *C. striatum* (1). Se han considerado como factores de riesgo la edad extrema y especialmente la prematuridad (inmunosupresión más marcada), fiebre materna

intraparto y fundamentalmente la RPM ≥ 18 h (25 casos; 65,8%) seguida de parto por vía vaginal (97,4%, 29 casos), instrumentalizado o no. El origen de las corinebacterias podría estar en la piel del neonato, de alta densidad bacteriana (Pople *et al.*, 1992; Bertone *et al.*, 1994), en bacteriemia materna (un caso constatado por realizar hemocultivo a la madre) o en las corinebacterias que colonizarían el canal del parto, bien por contacto directo en el periodo expulsivo, bien por vía ascendente en el caso de RPM durante un tiempo prolongado. Se han descrito corinebacterias en muestras genitales femeninas, unas sin patología asociada como *C. freneyi* (Funke y Frodl, 2008) o *C. xerosis* (Cattani *et al.*, 2000), otras de patogenicidad incierta como *C. glucuronolyticum*, aunque reconocida como patógeno genitourinario masculino (Funke y Bernard, 2007), o con reconocimiento como potencial patógeno oportunista en el embarazo como *C. aurimucosum*, causa de aborto espontáneo, prematuridad y muerte fetal, y también aislado de úlcera vulvar (Shukla *et al.*, 2003; Daneshvar *et al.*, 2004). En este trabajo, una de las cinco bacteriemias neonatales por *C. aurimucosum* se asoció a prematuridad. En el resto de prematuros se aisló *C. amycolatum* (4), *C. coyleae* (3) y *C. afermentans* subsp. *afermentans* (1).

En el caso de los neonatos nacidos mediante cesárea, la colonización y posible infección posterior neonatal podría ser, además de la vía ascendente desde el canal del parto favorecida por la RPM ≥ 18 h, el aire ambiental o a través del personal sanitario (origen exógeno, nosocomial) como señalan otros autores que estudiaron la colonización de la conjuntiva ocular en recién nacidos por cesárea, siendo uno de los géneros más frecuentes *Corynebacterium* spp. (Bezirtzoglou y Romond, 1991).

Solo en siete (18,4%) bacteriemias neonatales por corinebacterias se aisló en los cultivos de colonización del neonato y en todos se identificó una sola especie, *C. amycolatum*. Este hecho podría deberse a: i) no valoración clínica de estos microorganismos en estos cultivos, considerándolos contaminantes sin ser reconocidos como patógenos relevantes, como ocurre con *S. agalactiae*, *L. monocytogenes*, *E. coli* u otra enterobacteria; ii) no se obtiene su aislamiento por no reincubar al menos 48 h; iii) no reconocimiento macroscópico de aquellas que crecen formando colonias de características que se puedan confundir con estafilococos (*C. striatum*, *C. coyleae*, *C. afermentans*, *C. minutissimum*, *C. aurimucosum*), y de este modo, solo

se ha caracterizado *C. amycolatum*, de colonias enceradas y bordes rugosos, más reconocibles.

Serán necesarios estudios de colonización vaginal por *Corynebacterium* spp. y la valoración microbiológica y clínica tanto de los hemocultivos, cultivos de colonización u otras muestras clínicas neonatales, considerando la situación en conjunto con datos clínicos y bioquímicos (PCR, interleukinas, leucocitosis, VSG, etc.), para poder establecer el verdadero significado clínico del aislamiento de corinebacterias en neonatos. El significado clínico indeterminado en todos los pacientes estuvo condicionado por tratarse de muestra única, y con buena evolución clínica debido a la instauración precoz de ampicilina y gentamicina en estos niños justo después de la toma de muestra, y ser sensibles todos los aislados al menos a uno de estos dos antibióticos. Se ha descrito un caso de sepsis en prematuro por *C. amycolatum* de evolución fatal (Berner *et al.*, 1997), por lo que la precocidad en la valoración microbiológica clínica y en la instauración del tratamiento antimicrobiano son de especial importancia en estos pacientes especialmente frágiles.

Las ocho infecciones pediátricas no neonatales por corinebacterias fueron un aislamiento en LCR de *C. imitans* de significado indeterminado por ser muestra única y siete bacteriemias que se observaron en: dos sepsis, una postquirúrgica y otra secundaria a celulitis, (*C. striatum*), dos neumonías sin filiar (*C. freneyi* y *C. afermentans* subsp. *afermentans*), una otitis media sin filiar (*C. afermentans* subsp. *afermentans*), una ITU sin filiar en contexto de reflujo vésicoureteral (*C. argentoratense* en cultivo mixto con *C. amycolatum*) y una bacteriemia por *C. urealyticum* en un paciente sin patología urológica en un cuadro de gastroenteritis.

Otitis media y faringoamigdalitis son patologías frecuentes en pediatría. En un estudio de colonización bacteriana en 270 exudados de oído medio post-miringotomía, el género *Corynebacterium* fue el tercero más frecuente (7,4%), en igual proporción que *S. aureus* y *N. meningitidis* (Poetker *et al.*, 2005). *C. afermentans* subsp. *afermentans* se aisló en dos bacteriemias, con origen en otitis media y faringoamigdalitis y otra en neumonía, ambas sin filiar. La caracterización de *C. afermentans* subsp. *afermentans* puede estar dificultada tanto por su aislamiento, sobre todo a partir de muestras no estériles como en estos dos casos, como del reconocimiento morfológico del cultivo, de su caracterización, y que API Coryne no la identifica como especie individualizada, sino como *C. afermentans/coyleae* a las 24 h y como

C. auris/*T. otitidis* a las 48 h. Ambas especies también pueden ser causa de infecciones del área ORL, siendo necesaria la experiencia en el reconocimiento morfológico de las células por el Gram (bacilos más alargados en *T. otitidis*), del cultivo (coloración amarillenta y adherencia en *C. auris*) y en ocasiones se debe recurrir a técnicas complementarias para el diagnóstico diferencial fenotípico como DNAsa (positivo en *T. otitidis*), CAMP (positiva en *C. auris*, *C. coyleae* y *T. otitidis*, y variable en *C. afermentans* subsp. *afermentans*) (Renaud *et al.*, 1996) o recurrir a otros sistemas comerciales como Biolog, quimiotaxonómicos (ausencia de ácidos micólicos en *T. otitidis*) o técnicas genotípicas.

No se ha aislado en este estudio *C. jeikeium* en muestras pediátricas, aunque se ha referido en otras publicaciones (Dietrich *et al* 1989; Adderson *et al.*, 2008;), ni se ha diagnosticado endocarditis infecciosa pediátrica por *Corynebacterium* spp., patología infrecuente pero que reviste gravedad (Challier *et al.*, 1989; Belmares *et al.*, 2007). Cepas toxigénicas (Penni *et al.*, 1996; Lolekha *et al.*, 2003; Belmares *et al.*, 2007) y no toxigénicas de *C. diphtheriae* han sido asociadas con endocarditis infecciosas pediátricas ($p < 0,001$) (Belko *et al* 2000; Belmares *et al.*, 2007).

c) Implicación de corinebacterias en patología infecciosa humana

El análisis del posible significado clínico del aislamiento de corinebacterias a partir de diferentes muestras clínicas nos ha permitido establecer una serie de asociaciones que serán discutidas a continuación: endocarditis, bacteriemias en pacientes oncohematológicos, bacteriemias en pacientes con neoplasia de órgano sólido, lesiones pseudoneoplásicas, SIDA, infecciones oculares, patología digestiva y diabetes.

Las corinebacterias no diftéricas son infrecuentes pero reconocidas de manera creciente como causa de **endocarditis infecciosa** (Knox y Holme, 2001). La mayoría de las endocarditis infecciosas por corinebacterias son causadas por especies que constituyen flora habitual de la piel, en pacientes con factores predisponentes como inmunodepresión o enfermedad cardíaca preexistente, y sobre válvula nativa (Claeys *et al.*, 1996) y probablemente, infradiagnosticadas, por considerar su aislamiento en sangre como un contaminante (Arnold, 1987), aún más si el aislamiento es polimicrobiano (Kocazeybek *et al.*, 2002) o con falsos cultivos negativos por tratamiento antibiótico empírico previo (Durandy y Hulin, 1999). Su origen

puede ser nosocomial (Melero-Bascones *et al.*, 1996; Ross *et al.*, 2001; Knox y Holme, 2001; Lee *et al.*, 2005; Maryll y Casares, 2008) o comunitario (Roder y Frimondt-Møller, 1990; Lee *et al.*, 2005; Belmares *et al.*, 2007).

La gravedad que reviste esta patología, muerte o complicaciones graves (abscesos, sepsis y fallo multiorgánico), es con frecuencia señalada (Morris y Guild, 1991; Knox y Holmes, 2002; Benes *et al.*, 2002; Daniëls *et al.*, 2003; Mookadan *et al.*, 2006; Belmares *et al.*, 2007). Técnicas de manipulación diagnóstico-terapéuticas en el sistema cardiocirculatorio, como implantación de catéteres intravasculares (Knox y Holmes, 2002), prótesis valvular en cirugía cardíaca, marcapasos (Melero-Bascones *et al.*, 1996; Vaneechoutte *et al.*, 1998) o angiografía coronaria (Ross *et al.*, 2001), pueden ser origen de endocarditis infecciosa por corinebacterias, favorecido por condiciones de inmunosupresión como neutropenia o trasplante (Martino *et al.*, 1990). También se ha descrito su focalidad o concomitancia con otros procesos infecciosos, como artritis (Quinn *et al.*, 1991), cirrosis hepática (Cericco *et al.*, 1996) o meningitis (Dalal y Likhi, 2007).

Nuestra serie aporta tres casos de endocarditis infecciosa diagnosticados por la clínica, imagen (ecocardiografía transesofágica) y microbiología con aislamiento en sangre de la corinebacteria: *C. amycolatum* y *C. imitans* sobre válvula nativa, y *C. jeikeium* sobre válvula protésica, en pacientes adultos (una mujer y dos hombres con edades de 67, 72 y 79 años). En los tres casos subyacía enfermedad cardíaca: valvulopatía, mixomas auriculares y recambio valvular respectivamente. Tras terapia antibiótica precoz (ampicilina y gentamicina, vancomicina y gentamicina, y vancomicina respectivamente) tuvieron buena evolución clínica.

En el caso de endocarditis por *C. amycolatum* se han descrito como factores de riesgo: sexo femenino, catéter vascular y valvulopatía subyacente (Belmares *et al.*, 2007) y posible origen nosocomial como ya fue descrito por primera vez por Knox y Holmes, 2001, en una infección de fístula arterial en paciente hemodializado. En este caso no se solicitó cultivo del catéter vascular central. Otros casos de endocarditis han sido descritos además de los citados, como Dalal *et al.*, 2008, que señalan la efectividad del tratamiento combinado de daptomicina y rifampicina, y Daniëls *et al.*, 2003, que señalan la gravedad del cuadro por posibilidad de formación de abscesos y fístulas cardíacas, a la vez que su infrecuencia. Sin embargo, se replantea la frecuencia real de endocarditis por *C. amycolatum*, presente en la piel de

individuos sanos, una de las corinebacterias fermentativas más frecuentes aisladas en muestras clínicas humanas (Funke y Bernard, 2007) y la más frecuente aislada a partir de catéteres vasculares, sangre y muestras no sanguíneas en este estudio, ya que en la revisión bibliográfica se han encontrado diversas publicaciones de casos aislados de endocarditis por *C. xerosis* en pacientes previamente sanos o con enfermedad cardíaca o inmunosupresión (Eliakim *et al.*, 1983; Gómez *et al.*, 1989; Roder y Frimodt-Møller, 1990; Szabo *et al.*, 1990; Cerizzo *et al.*, 1996; Pessanha *et al.*, 2003), siendo un patógeno infrecuente en humanos. Esta especie ha sido confundida en el pasado, especialmente antes de 1996, con otras especies como *C. amycolatum* o *C. striatum* (Funke *et al.*, 1996a; Esteban *et al.*, 1999; Funke y Bernard, 2007) e incluso con *C. diphtheriae* (cepa toxigénica) (Pennie *et al.*, 1996). *C. xerosis* se ha aislado de un desfibrilador implantable (Marti *et al.*, 2008), pudiendo ser origen de endocarditis.

En nuestro estudio se recoge el primer caso de endocarditis por *C. imitans*, que ocurrió sobre válvula nativa. No se han encontrado otros casos de endocarditis por esta especie en la revisión de la literatura médica, habiendo sido relacionado su aislamiento con exudados nasofaríngeos en procesos similares a difteria y en bacteriemia (Funke y Bernard, 2007). Sin embargo, son muchas las referencias (las más numerosas) de endocarditis por *C. diphtheriae*, cepas toxigénicas y no toxigénicas, en niños y adultos, que destacan su incidencia en series amplias, señalando que quizás sea más común de lo que parece (Patey *et al.*, 1997; Belko *et al.*, 2000; Mishra *et al.*, 2005) y que se trata de un cuadro que reviste gravedad (Booth *et al.*, 1995; Holthouse *et al.*, 1998; Lolekha *et al.*, 2003; Benes *et al.*, 2002; Belmares *et al.*, 2007).

C. jeikeium está sobre todo en relación con válvula protésica, de especial importancia por la frecuencia, por la gravedad (alta mortalidad) y porque en porcentaje elevado requiere recambio valvular (Mookadan *et al.*, 2006; Belmares *et al.*, 2007). En el presente estudio la endocarditis por *C. jeikeium* sucedió en un hombre, sobre válvula protésica y necesitó recambio valvular, pero la evolución fue buena tras tratamiento precoz con vancomicina. *C. jeikeium* es causa de sepsis en pacientes neutropénicos portadores de catéteres u otro dispositivo intravascular, siendo importante su aislamiento en sangre sobre todo cuando el paciente es portador de una válvula protésica (Ross *et al.*, 2001; Mookadan *et al.*, 2006; Belmares *et al.*, 2007). Se ha demostrado la seroconversión de anticuerpos frente a *C. jeikeium* en un caso de endocarditis (Clark *et al.*, 1990).

Otros casos infrecuentes de endocarditis por corinebacterias han sido recogidos: *C. accolens* (Claeys *et al.*, 1996), *C. afermentans* subsp. *lipophylum* (Sewell *et al.*, 2005), *C. tuscaniae* (Riegel *et al.*, 2006), *C. macginleyi* (Pubill Sucarrat *et al.*, 2004;Tejada, 2007), *C. bovis* (Vale y Scott, 1996), *C. urealyticum* (Notario y Guild, 1991; Ena *et al.*, 1991) o *C. minutissimum* (Aperis y Moyssakisd, 2007; Dalal y Likhi, 2007).

Aunque considerados como causa infrecuente de endocarditis, han sido referidas en la literatura con mayor frecuencia otras especies como *C. pseudodiphtheriticum* (Morris y Guild, 1991; Rivero *et al.*, 2003), *C. striatum*, nosocomiales y comunitarias (Lee *et al.*, 2005) sobre válvula nativa o protésica (Belmares *et al.*, 2007; Bhat *et al.*, 2008; Maryll y Casares, 2008).

Se han recogido 26 casos de **bacteriemias en pacientes oncohematológicos**, donde se combinan varios factores predisponentes de inmunosupresión, dispositivos médicos en contacto con la piel, tratamientos antibióticos previos y hospitalización prolongada o frecuente. Pertenecieron a 10 especies: *C. afermentans* subsp. *afermentans* (3), *C. aurimucosum* (2), *C. coyleae* (3), *C. striatum* (3), *C. minutissimum* (1), *C. ureicelerivorans* (1) *C. xerosis* (1), *Corynebacterium* sp. (1), siendo las más frecuentes y multirresistentes: *C. jeikeium* (6) y *C. amycolatum* (5) ambas ya descritas en la literatura médica, considerando como factores de riesgo la neutropenia marcada y prolongada, presencia de catéter vascular, hombre adulto o mujer menopáusica y tratamiento antibiótico previo (Van der Lelie *et al.*, 1995; de Miguel *et al.*, 1999). Para prevenir las IRC en estos pacientes se han planteado técnicas de sellado antibiótico de los catéteres (Carratalá *et al.*, 1999; Cesaro *et al.*, 2007). *C. jeikeium*, es un importante patógeno nosocomial que coloniza la piel, principalmente en la axila, y es un contaminante ambiental donde puede permanecer mucho tiempo, que reviste gravedad por su habitual multirresistencia antibiótica y puede producir lesiones dermatológicas, (Telander *et al.*, 1988; Van der Lelie *et al.*, 1995; Tauch *et al.*, 2005;). Le siguen en frecuencia y también con referencias previas en la literatura médica cinco pacientes donde se aisló *C. amycolatum* multirresistente (de Miguel *et al.*, 1999), tres *C. striatum* (Adderson *et al.*, 2008), un *C. minutissimum* (Van Bosterhaut *et al.*, 1992; Dalal y Likhi, 2008), un *C. urealyticum* (Wood y Pepe, 1994; Fernández-Natal *et al.*, 2001; Soriano y Tauch, 2008), tres *C. coyleae* (Fernández-Natal *et al.*, 2008), un *C. ureicelerivorans* (Fernández-Natal *et al.*, 2008), tres *C. afermentans*

subsp. *afementans*, dos *C. aurimucosum*, un *C. xerosis* y un *Corynebacterium* sp., éstas cuatro últimas especies sin referencias previas en la literatura.

Las **neoplasias de órgano sólido**, como patología subyacente, han sido frecuentes en bacteriemias de pacientes adultos donde se han aislado especies del género *Corynebacterium*. *C. striatum*: destacó en este grupo de pacientes (56%, 14 pacientes), 10 neoplasias de órgano sólido y cuatro oncohematológicos, además de observar el predominio masculino y la edad media más elevada. Fueron instrumentalizados (catéteres vasculares y cirugía) 23 de los 25 pacientes, pero no se observaron pacientes oncológicos pediátricos en nuestro estudio. En un estudio de infecciones por *Corynebacterium* spp. en 16 pacientes pediátricos oncológicos portadores de catéteres (Adderson *et al.*, 2008), se estudiaron 12 bacteriemias y cinco infecciones de partes blandas, siendo *C. striatum* la especie más frecuente (cuatro bacteriemias).

También se observó que en el 50% de las bacteriemias por *Corynebacterium* sp. los pacientes tuvieron un diagnóstico de base de una neoplasia, y además en tres casos patología respiratoria (bronconeumonía, absceso pulmonar, neumonía extrahospitalaria sin filiar), una peritonitis, una Infección de partes blandas y dos ITU sin filiar, planteándose la necesidad de la prolongación de la incubación de los cultivos y valoración microbiológica, como ocurre con *C. urealyticum* (Soriano *et al.*, 1988), patógeno emergente (Soriano, 1987), nosocomial y frecuente en muestras clínicas humanas, sobre todo en relación con patología del tracto urinario (Soriano *et al.*, 1985; Soriano y Tauch, 2008; Chung *et al.*, 2008; Soriano, 2009), pero también no urológicas (Soriano *et al.*, 1993a; Fernández-Natal *et al.*, 2001) como en este trabajo, donde se observaron seis bacteriemias y dos IRC, y se relacionó con ITU solo en dos casos (una bacteriemia y un IRC).

Las corinebacterias pueden dar lugar a **lesiones pseudoneoplásicas**, siendo preciso establecer el diagnóstico diferencial en el que juega un papel primordial el microbiólogo clínico al identificar y valorar su aislamiento, como el descrito por Taguchi *et al.*, 2006, entre absceso (*C. coyleae*) y tumor pancreático o los dos casos de biopsia cutáneas donde se aisló *C. freneyi* en este estudio, tratándose de lesiones ulceradas descamativas y pruriginosas que plantearon el diagnóstico diferencial con neoplasia. Por otra parte, se ha descrito la infección por *C. striatum* de una lesión cutánea neoplásica maligna (Superti *et al.*, 2009).

La asociación de **infección por corinebacterias y SIDA**, se observó en tres pacientes adultos varones portadores de catéteres vasculares. En los tres casos se trató de bacteriemia por *C. jeikeium*. En un caso se asoció a infección por virus de la hepatitis C, en otro a linfoma no Hodgkin y en otro fue una BRC permanente. Ya han sido publicados otros casos de bacteriemias por *C. jeikeium* en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (Spach *et al.*, 1991) y por otras especies del género *Corynebacterium*, como *C. urealyticum* (Aracil *et al.*, 1997; Fernández-Natal *et al.*, 2001;), *C. striatum* (Tumbarello *et al.*, 1994), así como infecciones de otras localizaciones: respiratorias por *C. striatum* (Creagh *et al.*, 2000), *C. afermentans* subsp. *afermentans* (Minkin y Shapiro, 2004), cutáneas como celulitis, absceso ostocondral y granuloma cutáneo por *C. minutissimum* (Bandera *et al.*, 2000; Granok *et al.*, 2002; Santos-Juanes *et al.*, 2002) y absceso hepático por *C. jeikeium* (Turett *et al.*, 1993).

En **infecciones oculares** (conjuntivitis, endoftalmitis, queratitis), se han descrito algunas especies del género *Corynebacterium*. Algunas casi de modo selectivo como *C. macginleyi*, tanto en conjuntiva sana como en conjuntivitis, o *C. accolens* (Funke y Bernard, 2007), otras en relación a infecciones oculares por cuerpo extraño, lentes de contacto o cirugía refractiva (Macedo *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2006) como *C. xerosis*, y otras de modo ocasional como *C. minutissimum* (Dalal y Likhi, 2008) o *C. pseudodiphtheriticum* (Li y Lal, 2000; Bernard, 2005). En este trabajo se ha aislado *C. freneyi* en un caso de conjuntivitis y lesiones cutáneas eritemato-descamativas y pruriginosas en piel adyacente de cara, cuello y cuero cabelludo cuyo diagnóstico anatomopatológico fue de paraqueratosis y espongirosis, y evolucionó favorablemente al recibir tratamiento con amoxicilina-ácido clavulánico.

En 10 pacientes (ocho inmunodeprimidos y dos inmunocompetentes) con **patología digestiva** y/o sometidos a intervención quirúrgica en el tracto digestivo, se obtuvieron aislados de tres especies del género *Corynebacterium*: *C. ureicelerivorans* (cinco bacteriemias y una infección de líquido ascítico en seis pacientes), *C. appendicis* (bacteriemia en dos pacientes) y *C. pseudodiphtheriticum* (bacteriemia en dos pacientes). La prevalencia de estas tres especies en el tracto gastrointestinal es desconocida hasta el momento, y la presencia en la piel o mucosas solo ha sido reconocida en *C. pseudodiphtheriticum* formando parte de la flora

saprofita de la orofaringe (von Graevenitz *et al.*, 1998). En ninguno de estos pacientes se observó IRC y los hemocultivos fueron extraídos por venopunción directa.

Las tres especies mencionadas tienen capacidad ureásica y potencialmente capacidad para producir cálculos en tracto urinario. En ninguno de estos pacientes se observó infección del tracto urinario ni anormalidades urológicas. En modelo animal se ha puesto de manifiesto que *C. pseudodiphtheriticum* no produce elevación del pH de la orina (Bailiff *et al.*, 2005) ni cálculos (Arai *et al.*, 1997), como sí está demostrado en *C. urealyticum* tanto en humanos (Soriano *et al.*, 1985; Soriano *et al.*, 1986) como en animales (Gómez *et al.*, 1995).

En este trabajo se describen dos bacteriemias significativas por *C. pseudodiphtheriticum* en pacientes inmunocomprometidos con graves enfermedades de base y patología del tracto digestivo (pólipo y neoplasia de colon respectivamente). Por otra parte, uno de los pacientes presentaba una úlcera tórpida cutánea en una pierna sin estudio microbiológico de la misma, pudiendo considerarse como posible foco bacteriémico la infección de esta úlcera por dicho organismo como ya se ha descrito un caso de infección de lesión cutánea similar por esta especie (Cantarelli *et al.*, 2008). La mayoría de las publicaciones sobre *C. pseudodiphtheriticum* están relacionadas con infecciones del tracto respiratorio desde faringitis exudativas que remedan a la difteria, a traqueobronquitis, neumonías o abscesos pulmonares tanto en adultos como en niños, inmunodeprimidos o no (Riegel *et al.*, 1996; Chudnicka y Koziol-Montewka, 2003), hecho que contrasta con los resultados obtenidos en este trabajo en relación con esta corinebacteria que no es de las especies más frecuentes (hecho explicable porque se han estudiado muestras de sangre fundamentalmente) ni se ha aislado en pacientes con patología respiratoria de base, hecho que sí se observó en *C. mucifaciens*.

La **diabetes**, como patología de base, estuvo presente en 24 pacientes adultos (13,9%), observándose en todos ellos bacteriemias ocasionadas por muy diversas especies del género *Corynebacterium*: *C. amycolatum*, la más frecuente (5), *C. afermentans* subsp. *afermentans*, *C. coyleae*, *C. striatum* y *Corynebacterium* sp. (3 cada una), *C. appendicis*, *C. imitans*, *C. jeikeium*, *C. mucifaciens*, *C. propinquum*, *C. urealyticum* y *C. ureicelerivorans* (1 caso cada una). Se constató clínicamente como infección de pie diabético en cuatro casos, aunque solo en tres se pudo asociar la infección de pie diabético como foco bacteriémico: *C. amycolatum*, *C.*

urealyticum y *C. striatum*, en cultivo puro en los dos primeros y en cultivo mixto con *S. aureus* meticilín-resistente en el tercero. No se observó predominio de ninguna especie.

Citron *et al.*, 2007, encontraron que un 10,1% de las infecciones de pie diabético fueron producidas por bacterias del género *Corynebacterium*, y Dowd *et al.*, 2008, mediante técnica genotípica, afirman que el género *Corynebacterium* es el más frecuente en esta patología. Se plantea la posibilidad de infradiagnosticar corinebacterias como causa de infección del pie diabético si se emplean solo técnicas fenotípicas, bien por no realizar en paralelo hemocultivo y toma de muestra de la lesión cutánea, que otorgaría el rango de significación clínica definitiva, y/o por no reconocimiento o valoración de este hallazgo en la lesión cutánea, debiendo tener en cuenta aspectos como cultivo puro o predominante, presencia de leucocitos polimorfonucleados y otros signos y síntomas del paciente.

Se ha descrito la participación de especies del género *Corynebacterium* en la infección del pie diabético, y *C. striatum* considerada como la especie más frecuente seguida de *C. amycolatum*, *C. mucifaciens* y *C. tuberculoestearicum* (Dowd *et al.*, 2008), o la segunda más frecuente después de *C. amycolatum* (Citron *et al.*, 2007), pudiendo ser ambas especies multirresistentes. Los factores predisponentes a considerar en la infección del pie diabético por corinebacterias son la constitución de parte de la flora normal de la piel (*C. amycolatum*, *C. jeikeium*, *C. striatum*, *C. urealyticum*) (Funke y Bernard, 2007) y la posible presencia en el ambiente, como *C. mucifaciens*, *C. tuberculoestearicum* (Korthals *et al.*, 2008), *C. jeikeium* y *C. urealyticum* (Nieto *et al.*, 1996; Rosato *et al.*, 2001; Soriano y Tauch, 2008), además de otros factores comunes a otros microorganismos, como solución de continuidad de la piel, manipulación de la lesión (curas, daño de tejidos), deterioro vascular y neurológico a nivel local e inmunodepresión, pluripatología, cronicidad, niveles altos de glucemia y tratamientos antibióticos previos que originarían selección de aislados multirresistentes difícil de erradicar si no se recurre a alternativas terapéuticas o intervención quirúrgica (limpieza o resección de tejido necrótico).

d) Patología asociada a especies raras/infrecuentes del género *Corynebacterium*

Además de las especies del género *Corynebacterium* más ampliamente conocidas o involucradas en diversos cuadros infecciosos y referidas en este trabajo previamente, se hace

referencia a continuación a las especies raras/infrecuentes en la literatura médica o recientemente descritas que han sido aisladas y estudiadas en aspectos microbiológicos y clínicos en este trabajo. De las 16 especies recopiladas con esta etiqueta de “raras/infrecuentes o recientemente descritas”, por Bernard *et al.*, 2002, se recogieron siete de ellas en este trabajo: *C. argentoratense*, *C. aurimucosum*, *C. coyleae*, *C. imitans*, *C. mucifaciens*, *C. riegelii* y *C. simulans*. Además, se añaden otras cinco: *C. appendicis*, *C. ureicelerivorans*, *C. freneyi*, *C. minutissimum* y *C. xerosis*. De este modo, se aportan más situaciones clínicas en que se implican corinebacterias, lo que refuerza su poder patógeno, significación clínica y la transcendencia de su caracterización y valoración por el microbiólogo clínico.

C. argentoratense se aisló en una bacteriemia pediátrica mixta con *C. amycolatum* en un niño de tres años con ITU de repetición sin filiar de posible significado clínico. Es la segunda ocasión que se aísla en sangre esta especie, siendo el primero descrito por Bernard *et al.*, 2002, con la característica de no producir actividad α -quimotripsina, característica exclusiva de esta especie médicamente relevante cuando se ha aislado de exudados faríngeos de personas sanas o enfermas (Funke y Bernard, 2007) y se ha demostrado su capacidad de adhesión y formación de biopelícula en el tejido adenoide que explicaría su patogenicidad como causa de otitis recurrente (Kania *et al.*, 2008).

C. aurimucosum es una especie de reciente descripción (Yassin *et al.*, 2002a) y de la que existe poca información sobre sus aspectos clínicos. La mayoría de los aislados han estado en relación con muestras genitourinarias femeninas y complicaciones del embarazo, como aborto espontáneo, muerte fetal y parto pretérmino, considerándose un posible patógeno oportunista durante el embarazo (Shukla *et al.*, 2003). Se han publicado los aislamientos de 27 cepas: una a partir de sangre (Yassin *et al.*, 2002a), ocho infecciones osteoarticulares (Roux *et al.*, 2004) y 18 productoras de pigmento negro: Bernard *et al.*, 2002, recogen dos cepas aisladas a partir de un exudado vaginal y una úlcera vulvar, y Daneshvar *et al.*, 2004 recopilan 16 cepas aisladas a partir de orina, LCR, líquido amniótico, placenta, endometrio, exudado cervical, vaginal, vulvar, y de glándulas de Bartolino. Nuestro estudio aporta 15 aislados de *C. aurimucosum* no productoras de pigmento negro de 12 pacientes inmunocomprometidos, 75% del género masculino, cinco neonatos y siete adultos de edad comprendida entre 26-74 y

media de 44,7 años. Se aislaron a partir de ocho bacteriemias, una de ellas BRC retirado, tres IRC (en un paciente, de dos catéteres), una infección articular post-traumática no protésica y en una infección de OSCDP complicada con peritonitis secundaria en paciente en programa de diálisis peritoneal en cultivo mixto con *C. amycolatum*. A todos los pacientes adultos se les aplicó alguna técnica de manipulación diagnóstico-terapéutica, y en el caso de los neonatos los factores de riesgo fueron RPM >20 h, fiebre intraparto (dos casos respectivamente) y prematuridad (un caso). Todos recibieron tratamiento antibiótico adecuado y la evolución fue favorable excepto en un caso que falleció por grave patología de base después de 70 días de hospitalización. Se consideró con significación clínica definitiva en dos casos, probable en un caso, posible en cuatro casos, e indeterminada en los cinco neonatos por ser muestra única.

C. coyleae se aisló de 24 pacientes, 13 adultos y 11 neonatos, a partir de 30 muestras de sangre, un catéter vascular central, una bolsa de concentrado de hematíes y un exudado de úlcera vascular. En publicación reciente derivada de una fase preliminar de este trabajo, se aportaron 12 de los 24 casos (14 aislados) y se revisó la literatura encontrando otros 18 aislados (ocho de sangre, tres de orina, tres de líquido prostático, dos de líquido pleural y dos abscesos) publicados en cuatro trabajos en un intervalo de 11 años, desde su primera descripción por Funke *et al.*, 1997a hasta el momento (Fernández-Natal *et al.*, 2008). Ha sido la tercera especie del género *Corynebacterium* más frecuentemente aislada en este estudio (10,9%), por lo que la infrecuencia en el pasado puede ser debida a no ser valorado su aislamiento ni su patogenicidad o por la inadecuada caracterización fenotípica. Esta especie puede ser erróneamente identificada como *C. jeikeium* en sistemas comerciales como Biolog (59,2%) y API Coryne (100%) o *C. afermentans* si no se prolonga la incubación 48 h (no consta en su base de datos), si no se reconoce la morfología de las colonias o se realizan pruebas complementarias como lipofilia o CAMP. Se amplía con otros 12 pacientes (siete adultos y cinco neonatos, tres de ellos prematuros) con bacteriemia por *C. coyleae*, una de ellas BRC por aislarse además en el cultivo de una punta de catéter. Se confirma que la sangre es la muestra más habitual de aislamiento de *C. coyleae* (38 aislados en total de 22 pacientes, la mitad neonatos), pero otras muestras son posibles como las descritas: abscesos o exudados en infecciones de partes blandas (4), líquido prostático (3), orina (3), líquido pleural (2), líquido ascítico (1) y bolsa de concentrado de hematíes (1). La valoración del significado clínico, en

conjunto en estos 24 pacientes ha sido en los 11 neonatos, 10 indeterminado por ser muestra única y uno probable por aislarse en cultivo mixto con *C. amycolatum* a partir de sangre y exudado conjuntival. En los 13 adultos, todos sometidos a algún tipo de manipulación diagnóstico-terapéutica, la valoración de su significado clínico fue definitiva (7; 29,2%), probable (2), posible (3) e indeterminada (1). La evolución fue favorable en todos los pacientes excepto tres fallecimientos (12,5%) a pesar de ser tratados con antibióticos adecuadamente, por grave patología de base.

C. imitans fue descrito por primera vez a partir de un aislado procedente de un exudado faríngeo en un niño no vacunado frente a la difteria con un cuadro similar a esta enfermedad. Su aislamiento en sangre únicamente ha sido publicado por Bernard *et al.*, 2002 en cinco casos. En este trabajo se obtuvieron siete aislados (seis de sangre y un LCR) de cuatro pacientes varones, tres adultos y un niño de tres años. En los tres pacientes adultos se aisló a partir de dos muestras de sangre cada uno, con diagnóstico clínico de infección respiratoria, endocarditis infecciosa en paciente con enfermedad cardíológica subyacente, describiéndose la primera por esta especie, y orquiepididimitis. Es la primera ocasión que se aísla *C. imitans* a partir de LCR, tratándose de un cuadro de ACV con hemiplejía derecha y fiebre en un niño de tres años vacunado de difteria con lesiones cutáneas de varicela. En el cultivo de exudado faríngeo se obtuvo flora habitual, y en el estudio de LCR obtenido por punción traumática la PCR de enterovirus y virus del grupo herpes fueron negativos. El tratamiento adecuado y la evolución favorable se observó en los cuatro pacientes. El significado clínico fue definitivo en los tres adultos e indeterminado en el niño por tratarse de aislamiento único en LCR, aunque en cultivo puro.

Como en el resto de las especies etiquetadas como infrecuentes en muestras clínicas humanas, una causa de la infrecuencia puede ser debida a no ser valorada o erróneamente caracterizada si no se dispone de metodología para diagnóstico molecular, incluso por cromatografía, ya que, así como la mayoría de las especies del género *Corynebacterium* presentan diferencias cualitativas en el perfil de CFA entre ellas, *C. imitans* solo difiere en la composición cuantitativa de los mismos de *C. coyleae* (subgrupo 1), *C. riegellii* y *C. simulans* (Van den Velde *et al.*, 2006). En cuanto a la identificación fenotípica, así como el sistema Biolog identificó tres de los cuatro aislados, el sistema API, ampliamente utilizado, no lo incluye

en su base de datos y puede ser erróneamente identificada como *C. amycolatum* (en tres de los cuatro aislados comparten el perfil 2100325 y ambas son resistentes al factor vibriostático O/129), con *C. diphtheriae* o, como en el pasado, con *C. minutissimum* (Funke y Bernard, 2007), por lo que la experiencia del microbiólogo en el reconocimiento morfológico de las colonias y pruebas bioquímicas definitorias (α GLU positiva y fermentación de glucógeno) es fundamental en la elección de pruebas complementarias diferenciales (CAMP e hidrólisis de la tirosina).

C. mucifaciens ha sido descrita como una corinebacteria inusual en muestras clínicas humanas (Funke *et al.*, 1997d) y ha sido principalmente aislada de sangre y otros líquidos biológicos normalmente estériles (Bernard *et al.*, 2002; Funke y Bernard, 2007), aunque recientemente se ha relacionado por primera vez con patología del área otorrinolaringológica como causa potencial de otitis media secretora y sinusitis crónica con poliposis nasal (Morinaka *et al.*, 2006). Nuestro trabajo aporta tres bacteriemias por *C. mucifaciens*, con significación clínica definitiva en dos casos y posible en otro, en tres pacientes que presentaron en común patología respiratoria, dos casos de neumoconiosis y un caso de neumonía adquirida en la comunidad. Todos los pacientes fueron portadores de catéter vascular pero no presentaron infección relacionada con ellos, recibieron tratamiento antibiótico idóneo y la evolución fue favorable en dos casos y fatal en otro por deterioro extremo del paciente de 82 años que, además de neumoconiosis, presentaba un proceso neoplásico y cirrosis hepática. La caracterización fenotípica y la genotípica de estos tres aislados coincidieron con la descrita por Funke *et al.*, 1997: colonias mucoides, amarillas, grandes, sin capacidad ureásica. Sin embargo ha de tenerse en cuenta que pueden aislarse cepas atípicas de *C. mucifaciens* que no se ajustan a este patrón morfológico tan distintivo, y que por el contrario, son blanquecinas, pequeñas (1 mm de diámetro) tanto a las 24 como a las 72 h de incubación (Cantarelli *et al.*, 2006). Esta cepa (NML 97-0160, "Closest to *C. mucifaciens*" en *GenBank*) fue descrita en una bacteriemia de evolución fatal en una paciente de 82 años con patología respiratoria (fibrosis pulmonar) y neoplasia como patología de base al igual que uno de los pacientes que se describen en nuestro trabajo. *C. mucifaciens* puede comportarse como un patógeno oportunista ya que ha sido aislado formando parte de la microflora de la axila de personas sanas (Taylor *et al.*, 2003) y del polvo ambiental en granjas (Korthals *et al.*, 2008) y, por tanto, con posibilidad de

ser foco infeccioso local o a distancia, o ser inhalada y producir patología respiratoria, si las condiciones de base del individuo la favorecieran.

Desde la primera descripción de *C. riegelii* (Funke *et al.*, 1998b) a propósito de cuatro aislados, solo se había relacionada con ITU en mujeres (Ferrer *et al.*, 2001; Verdaguer *et al.*, 2008). Comparte con *Corynebacterium* grupo F1 y *C. urealyticum* la actividad ureásica (rasgo fenotípico más destacable además de fermentar maltosa pero no glucosa) y capacidad de formar cristales de estruvita (fosfato amónico-magnésico) con las que se debe establecer diagnóstico diferencial (Soriano y Ponte, 1992). Pero no se había descrito su aislamiento en sangre hasta la publicación por Bernard *et al.*, 2002, de dos bacteriemias en adultos y una en sangre de cordón, además de otra en orina (aportan un total de cuatro aislados). Nuestro trabajo aporta un caso más de bacteriemia significativa, BRC permanente, en un varón diagnosticado de neoplasia de pulmón y hemocromatosis, sometido a radioterapia, que fue tratado con vancomicina y evolucionó favorablemente.

C. simulans se aisló a partir de siete muestras clínicas de cuatro pacientes y en todos ellos en relación con infección de partes blandas. La descripción como nueva especie (Wattiau *et al.*, 2000) se realizó a partir de tres cepas aisladas de infecciones de partes blandas: un absceso en pie (en cultivo puro del pus obtenido por punción), una biopsia de adenopatía axilar y un forúnculo, todas ellas infecciones de tejidos blandos, localizadas y sin más información añadida de significación clínica y evolución, siendo la única referencia bibliográfica relacionada con su aislamiento en muestras clínicas humanas.

Hasta el momento, en la literatura médica, no se han descrito bacteriemias ni otra patología distinta a la infección de partes blandas por *C. simulans*. En nuestro trabajo se presentan dos bacteriemias significativas por *C. simulans* y dos casos más de infección de tejidos blandos, identificados mediante técnicas feno y genotípicas. Las bacteriemias se observaron en dos pacientes varones con afectación cutáneo-mucosa, uno de ellos con fiebre y lesiones eritemato-descamativas (dermatitis atópica), y otro paciente inmunodeprimido y portador de catéter vascular con sialoadenitis postquirúrgica de carcinoma epidermoide en base de lengua. Los dos casos restantes se aislaron a partir de un hematoma hepático, obtenida la muestra por PAAF en cultivo puro, y de lesiones cutáneas pustulosas (impétigo) en cultivo mixto con *C. amycolatum*, ambas con posible significación clínica por tratarse de una

única muestra procesada para cultivo. Todos los pacientes fueron tratados con antibióticos y la evolución fue favorable.

Ante esta infrecuente asociación de patología infecciosa por *C. simulans*, se apunta la posibilidad de ser infravalorado como auténtico patógeno al ser recuperado de muestras cutáneo-mucosas (partes blandas) y ser considerado un contaminante, o tratarse de un error de identificación en el laboratorio de Microbiología por la semejanza en el perfil bioquímico con *C. striatum* y con la morfología de las colonias con esta misma especie y *C. minutissimum*, contrastando el importante, diverso y frecuente reconocimiento patogénico de *C. striatum* (Funke y Bernard, 2007). Este error diagnóstico puede ser debido a que esta especie no está incluida en la base de datos de API Coryne (se puede identificar como *Corynebacterium* gr G o *C. striatum/amycolatum*), por lo que requiere la orientación del microbiólogo para establecer el diagnóstico diferencial aplicando pruebas individuales complementarias (como crecimiento en agar sangre a 20°C durante tres días) y/o técnicas moleculares (Wattiau *et al.*, 2000), y/o técnicas quimiotaxonómicas apropiadas, ya que aunque la mayoría de corinebacterias se distinguen por diferencias cualitativas en el perfil de los CFA de la pared celular, *C. simulans* solo presenta diferencias cuantitativas con *C. coyleae* subgrupo 1, *C. imitans* o *C. riegliei* (Van de Velde *et al.*, 2006).

C. appendicis (Yassin, 2002b) y *C. ureicelerivorans* (Yassin, 2007) son dos especies de reciente descripción con semejanzas fenotípicas (lipofilia, colonias pequeñas y secas de crecimiento lento) e implicaciones clínicas comunes, ambas relacionadas con patología del tracto digestivo. El único aislado descrito en la literatura médica de *C. appendicis* se obtuvo a partir de un plastrón apendicular en un paciente diagnosticado de apendicitis (Yassin, 2002b). En nuestro estudio se presentan dos bacteriemias significativas en dos pacientes adultos varones inmunodeprimidos, uno de ellos diagnosticado de enfermedad de Crohn con fístula íleo-cecal y plastrón apendicular al que se le practicó una colonoscopia y resección ileocecal, y otro paciente diagnosticado de neoplasia de recto y sigma que tras su resección quirúrgica se complicó con la formación de un plastrón en la colostomía. Ambos recibieron tratamiento empírico adecuado que condicionó la buena evolución de los episodios ya que el informe microbiológico preliminar con la identificación a nivel de género y el antibiograma se demoraron una semana.

El primer aislado de *C. ureicelerivorans* fue a partir de una muestra de sangre (Yassin, 2007). Los 15 aislados de *C. ureicelerivorans* en seis pacientes recogidos en este estudio han sido publicados recientemente (Fernández-Natal *et al.*, 2008), donde se incide en la importancia de: i) su correcta caracterización para diferenciarla de otras especies con semejanzas fenotípicas como *C. urealyticum* por su potente ureasa, *C. bovis* y *C. appendicis*, o genotípicas como “Closest to *C. mucifaciens*”, ii) su sensibilidad antibiótica y, iii) su significación clínica. *C. ureicelerivorans* se comporta como un patógeno oportunista en pacientes con patología digestiva o sujetos a técnicas de manipulación diagnóstico-terapéuticas, inmunocomprometidos o no, como dos de estos pacientes, jóvenes inmunocompetentes, con dolor en fosa iliaca derecha, fiebre y leucocitosis, semejando apendicitis. Tanto *C. appendicis* como *C. ureicelerivorans* y *C. urealyticum* son corinebacterias que comparten, además de su capacidad ureásica y lipofilia, el crecimiento lento y pequeño tamaño de sus colonias. Biolog lo identificó erróneamente como *C. jeikeium* y API Coryne como *C. bovis*, debiendo diferenciarlo mediante la aplicación de pruebas complementarias como oxidasa (positiva), ureasa convencional (negativa) e hidrólisis de hipurato (negativa) características de *C. bovis*.

En nuestro estudio se presentan tres casos de infección por *C. freneyi*: una bacteriemia en un niño inmunodeficiente de tres años con neumonía, fiebre y distress respiratorio y dos biopsias cutáneas de diferente localización en dos pacientes adultas, una con conjuntivitis y lesiones eritemato descamativas en cara, cuello y cuero cabelludo, y otra paciente con lesiones ulceradas descamativas y pruriginosas en zona púbica, perianal y vulvar que plantearon el diagnóstico diferencial con infección fúngica o neoplasia. El estudio histológico reveló paraqueratosis y espongiosis e hiperplasia pseudoepiteliomatosa respectivamente, y el cultivo en medios selectivos para hongos fue negativo. El tratamiento antibiótico fue adecuado en los tres pacientes y la evolución favorable. No consta en la base de datos de API Coryne, y para su correcta caracterización es preciso realizar pruebas complementarias y/o moleculares genéticas para diferenciarla de otras estrechamente relacionadas fenotípicamente como *C. xerosis*, *C. amycolatum* y *C. hansenii*. Se ha publicado el aislamiento de 22 cepas de *C. freneyi* a partir de muestras del tracto genital femenino sin asociación a enfermedad (13), lesiones cutáneas (5), conducto auditivo externo (1), biopsia duodenal (1), orina (1) y sangre (1) (Renaud *et al.*, 2001; Funke y Frodl, 2008).

Se han recuperado cuatro aislados de *C. minutissimum* (1,6% del total) de cuatro bacteriemias, tres de significación clínica indeterminada y una posible, condicionada por tratarse de muestra única. Ninguno de los pacientes presentó enfermedad dermatológica. En dos de ellas, bacteriemias neonatales, los factores de riesgo fueron RPM >18 h e ITU de la madre pudiéndose relacionar con posible origen en el tracto genitourinario de las madres. Fue identificada únicamente mediante secuenciación del gen 16S rADN. La justificación de su, al menos, relativa rareza/infrecuencia, es la duda de que lo publicado sean auténticos *C. minutissimum*, ya que en el pasado se ha identificado erróneamente tratándose en realidad de *C. amycolatum*, *C. striatum* (Zinkernagel *et al.*, 1996; Lagrou *et al.*, 1998; Wautters *et al.*, 1998) o *C. imitans* (Funke y Bernard, 2007). Ya más recientemente se ha enmendado su primera descripción (Collins y Jones, 1983) y diferenciado genéticamente de *C. aurimucosum* con quien tiene una gran semejanza fenotípica y genotípica (Yassin *et al.*, 2002a). Ha sido una de las especies que no se ha podido identificar por el sistema comercial API Coryne, no consta en su base de datos, y en Biolog se obtuvieron falsos positivos de auténticos *C. aurimucosum*. *C. minutissimum* ha sido aislado en infecciones en pacientes inmunocompetentes e inmunodeprimidos, fundamentalmente relacionada con eritrasma y otras infecciones cutáneas, como celulitis, abscesos, granulomas (Granok *et al.*, 2002; Bandera *et al.*, 2000; Santos-Juanes *et al.*, 2002), infecciones oculares (Dalal y Likhi, 2008), pero menos como agente etiológico de infecciones extracutáneas. Se han descrito casos de bacteriemia asociada a celulitis (Granok *et al.*, 2002) o BRC (Rupp *et al.*, 1998), endocarditis (Dalal y Likhi, 2007; Aperis y Moyssakis, 2007), meningitis (Dalal y Likhi, 2008) y pielonefritis (Ahmad y Ahmad, 2005).

Se confirma la rareza del aislamiento de *C. xerosis* en muestras clínicas: se han recuperado a partir de sangre dos cepas (0,8% del total) de las 247 corinebacterias estudiadas, Sin embargo, la proporción es mayor que la observada por otros autores en la identificación de corineformes: solo una entre 1.540 aislados (0,06%) (Riegel *et al.*, 1996; Wauters *et al.*, 1998; Balci *et al.*, 2002). En el pasado ha podido ser identificada erróneamente tratándose en realidad de *C. amycolatum* o *C. striatum* (Funke *et al.*, 1996a; Esteban *et al.*, 1999; Funke y Bernard, 2007) y *C. diphtheriae* (Pennie *et al.*, 1996). En la valoración del número de aislados de *C. xerosis* en la literatura, se ha de tener en cuenta el método de identificación utilizado. Esta especie no está incluida en la base de datos de sistemas comerciales como API Coryne,

el más ampliamente utilizado, (Funke *et al.*, 1997f; Soto *et al.*, 1994) ni en Biolog (Lindemann *et al.*, 1995). Por tanto, es importante la aplicación de otras pruebas fenotípicas complementarias, aunque no como marcadores diagnósticos únicos, como asimilación de maltosa, PAC y NAG mediante el sistema comercial API NE empleado para bacilos Gramnegativos pero con modificaciones en su procedimiento (Renaud *et al.*, 1998) o crecimiento en agar sangre a 20°C y fermentación de glucosa a 42°C ambas en tres días (Wauters *et al.*, 1998), además de la susceptibilidad al O/129 y producción de α GLU, técnicas quimiotaxonómicas o moleculares como PCR del ITS 23S-16S (Renaud *et al.*, 2001) o hibridación ADN-ADN (Renaud *et al.*, 2007). Se aisló de 2 bacteriemias significativas en un paciente inmunocomprometido (linfoma de Burkitt que recibía quimioterapia y hemodializado) y otro paciente diagnosticado de pancreatitis litiásica y neumonía. Los dos pacientes adultos comparten la presencia de catéteres vasculares, uno con IRC femoral y otro con flebitis, ambas no documentadas microbiológicamente (no solicitud de cultivos), pudiendo tratarse de la puerta de entrada de ambas bacteriemias ya que constituye flora normal de piel y, por otro lado, la evolución favorable tras tratamiento antibiótico adecuado según el antibiograma. Se han descrito otros (limitados) casos de aislamiento en sangre de *C. xerosis* en cuadros de sepsis y endocarditis, (Pessanha *et al.*, 2003; Cericco *et al.*, 1996; Szabo *et al.*, 1990; Frimodt-Møller, 1990; Roder y; Gómez *et al.*, 1989; Eliakim *et al.*, 1983), absceso cerebral (Wooster *et al.*, 1999), artritis séptica postquirúrgica (Booth *et al.*, 1991), infecciones oculares por cuerpo extraño, lentes de contacto o cirugía refractiva (Macedo *et al.*, 2005; Oliveira *et al.*, 2006) y desfibrilador implantable (Marti *et al.*, 2008), pero se ha de tener en cuenta el año de su publicación y método de caracterización utilizado.

Se necesitarán estudios moleculares posteriores para completar la identificación a nivel de especie de los 10 aislados caracterizados como *Corynebacterium* sp. en nueve bacteriemias y una IRC en pacientes inmunocomprometidos.

e) Patología observada en cultivos mixtos

El aislamiento de corinebacterias en cultivo mixto ha sido uno de los criterios utilizados que restan definición al significado clínico de los aislados de corineformes en muestras clínicas humanas (Arnold, 1987; Funke *et al.*, 1997e), por ser posibles colonizadores de la muestra,

contaminantes del cultivo o bien por aislarse con otro microorganismo con poder patógeno reconocido. Se observaron cultivos mixtos en el 11,5% de los casos y sin embargo se estimó que en un 56% y 44% el significado fue posible y probable respectivamente. La flora acompañante que predominó fue Grampositiva (74,1%) como ya se ha descrito en estudios de colonización de piel y mucosas (Bezirtzoglou y Romond, 1991; Kazmierczak y Szewczyk, 2004). En el estudio de Roux *et al.*, 2004 sobre infecciones osteoarticulares por corinebacterias, la incidencia de cultivos mixtos fue superior (25,8%) y sin predominio de Grampositivos. La especie más frecuente fue *C. amycolatum* (76%) sobre todo en catéteres vasculares, probablemente por constituir flora normal de la piel y el contacto directo con este material extraño que ha supuesto la pérdida de continuidad de la misma y su manipulación. Es de destacar siete casos de cultivo mixto de dos corineformes, siempre presente *C. amycolatum*: seis corinebacterias en sangre (*C. argentoratense*, *C. aurimucosum*, *C. coyleae*, *C. simulans*, *C. striatum*, y *Corynebacterium* sp.), excepto *C. striatum*, especies infrecuentes; y un corineforme en un OSCDP, *Mycobacterium canariense*, no descrito hasta ahora.

f) Manipulación diagnóstico-terapéutica

El incremento de las técnicas diagnóstico-terapéuticas y uso de prótesis o cuerpos extraños en general en la práctica médica habitual ha ido paralela a los avances tecnológicos y al incremento de la infección nosocomial. La principal fuente de microorganismos es la flora endógena de los pacientes hospitalizados, sobre todo de su piel, ya que la transmisión de las bacterias desde ella es muy efectiva. Las especies del género *Corynebacterium* son las terceras más frecuentes (después de *Staphylococcus* spp. y *Propionibacterium* spp.) y el 84,7% de éstas son lipófilas, de especial importancia porque pueden ser multirresistentes (Kazmierczak y Szewczyk, 2004). Otro origen de la contaminación/colonización de corinebacterias puede ser el personal sanitario, por contacto, en su manipulación o la contaminación ambiental donde pueden permanecer largo tiempo (Telander *et al.*, 1988), como se ha estudiado en *C. urealyticum* y *C. jeikeium* y posteriormente ser causa de infección (Nieto *et al.*, 1996; Rosato *et al.*, 2001; Tauch *et al.*, 2005; Soriano y Tauch, 2008). Los resultados obtenidos en el aspecto clínico de este trabajo, evidencian la importancia de estas técnicas como factores predisponentes en la infección por *Corynebacterium* spp. Se observaron en el

91,3% de los pacientes adultos siendo la técnica más frecuente la presencia de catéteres intravasculares (44,6%) y *C. amycolatum* la especie más frecuente, posible origen de endocarditis nosocomiales (Knox y Holmes, 2002) con predominio en pacientes quirúrgicos de edad avanzada, patología grave subyacente y de evolución fatal en un tercio de los casos. En segundo lugar, la cirugía (22,7%) destacando el aislamiento de *C. striatum* ya descrito como patógeno nosocomial emergente (Leonard *et al.*, 1994; Renom *et al.*, 2007; Maryll y Casares, 2008) que puede obligar a la retirada de los cuerpos extraños (Lee *et al.*, 2005). Otros procedimientos médicos fueron: endoscopias digestivas, paracentesis, toracocentesis, catéter epidural, sonda vesical, y de especial importancia los pacientes nefrológicos, en diálisis peritoneal (7) y hemodiálisis (8), donde se combina la manipulación propia a la del personal sanitario, durante un tiempo prolongado (no esporádico) en ambiente hospitalario y en un contexto de inmunosupresión y tratamientos previos antibióticos del paciente. En las ocho especies que se han recuperado a partir de ocho o más pacientes se observó manipulación diagnóstico-terapéutica en >70%, destacando *C. aurimucosum* y *C. coyleae* (100%).

En este trabajo se recogen dos casos de aislamiento de *C. afermentans* subsp. *afermentans* en relación con procedimientos de cardiología intervencionista pero sin evolución a endocarditis, una bacteriemia secundaria a arteriografía coronaria y una infección de marcapaso con aislamiento de la corinebacteria a partir del punto de inserción cutánea y de la bolsa. Banai *et al.*, 2003 después de estudiar 960 cateterismos cardiacos, encuentran como factores de riesgo de bacteriemia secundaria, la duración del procedimiento, las punciones múltiples de la piel, el uso de varios balones y la obesidad.

Se ha descrito que las corinebacterias son la causa más frecuente de endocarditis infecciosa precoz sobre válvula protésica, en contraste con *Streptococcus* grupo *viridans*, las más tardías (Chen *et al.*, 1990), de ahí la importancia de poner énfasis en la sospecha y valoración en pacientes inmunocomprometidos con dispositivos intravasculares.

g) Bacteriemia relacionada con catéteres (BRC)

Las BRC por corineformes recogidas en este periodo de estudio fueron 19 casos, en el 7,0% de los 270 pacientes, así como el 9,2% y 10,2% de las bacteriemias por corineformes en general y corinebacterias respectivamente. Dos BRC fueron producidas por bacterias

corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium*: una por catéter retirado (*M. oxydans*) y otra por catéter permanente (*D. natronolimnaea*) y en los 17 casos restantes por corinebacterias de seis especies. Las especies más frecuentes, sobre todo en catéteres permanentes en pacientes oncohematológicos, fueron *C. jeikeium* y *C. striatum*, como ya se ha descrito (Lee *et al.*, 2005; Funke y Bernard, 2007; Adderson *et al.*, 2008). Además de tres casos de BRC por *C. amycolatum*, tercera en frecuencia, se ha descrito ya previamente (Oteo *et al.*, 2001), o por *C. coyleae* (1 caso) (Fernández-Natal *et al.*, 2008) pero no así de BRC por *C. aurimucosum* (1 caso) y *C. riegelii* (1 caso), sumándose así a los casos de BRC por especies del género *Corynebacterium* infrecuentes.

Las IRC y BRC, infecciones adquiridas en el hospital, aumentan la morbi-mortalidad y el coste sanitario, de ahí la importancia en su prevención como las promovidas por el proyecto “Bacteriemia Zero” como medidas de seguridad del paciente (disponible en: http://www.who.int/patientsafety/activities/bacteriemia_zero/es/index.html) y basadas en adquirir correctas prácticas de inserción de los catéteres vasculares (lavado de manos, lavado cutáneo con clorhexidina, uso de medidas de barrera total durante la inserción, preferencia de la vena subclavia y evitar la inserción femoral, retirar catéteres innecesarios y manejo higiénico de catéteres), programas de educación y medida de tasas de infección han logrado una reducción superior al 66% en la incidencia de las BRC en un periodo de estudio de 18 meses (Provonost *et al.*, 2006). En el caso de catéteres permanentes que no se pueden retirar en pacientes neutropénicos, puede ser efectivo en su prevención, además de lo expuesto, las técnicas de sellado antibiótico con glicopéptido (teicoplanina) para evitar la colonización de los mismos y la IRC y BRC recurrentes (Cesaro *et al.*, 2007).

h) Patología asociada a corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium*

Los aislados corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium* supusieron un 17,7% del total (53 aislados) y procedieron de 86 muestras obtenidas de 53 pacientes (50 adultos y tres pediátricos). El género más frecuente fue *Brevibacterium* (31,9%), resultado que coincide con lo publicado en otros estudios de identificación de corineformes en muestras clínicas humanas (Chudnicka y Koziol-Montewka, 2003) o segundo en frecuencia después de *Dermabacter hominis* (Lagrou *et al.*, 1998).

De las 17 especies descritas en el género *Brevibacterium* (Funke y Bernard, 2007), siete de ellas son habituales en muestras clínicas humanas, desde *B. casei*, la más conocida y frecuente (Funke y Carlotti., 1994) como ocurre en este estudio, que supuso el 13,1% del total de corineformes no-corinebacterias, hasta las descritas más recientemente como *B. lutescens* a partir de dos líquidos peritoneales de diálisis (Wautters *et al.*, 2003) y *B. sanguinis* (Wautters *et al.*, 2004) aislada en seis bacteriemias y un líquido peritoneal de diálisis, esta última especie también aislada en este estudio a partir de dos bacteriemias. Ha sido el género más frecuente aislado en las muestras no sanguíneas estudiadas (líquido peritoneal, adenopatía cervical y dos biopsias de médula ósea). Los tres únicos casos de bacteriemias pediátricas por corineformes no-corinebacterias fueron neonatos y debidas al género *Brevibacterium* (2 *B. stationis* y 1 *B. casei*), no siendo descrito como patógeno común en infecciones por corineformes en otros pacientes pediátricos inmunocomprometidos, como señalan Adderson *et al.*, 2008. Estos autores publican una serie de 16 niños portadores de catéter venoso central y terapia oncológica durante un periodo de 13 años, encontrando 12 casos de bacteriemia y cinco de infecciones de partes blandas, siendo los microorganismos más frecuentes *C. striatum* seguido de *C. amycolatum* y *Microbacterium* spp.

Dermabacter hominis (9,4%) (antes, bacteria corineforme incluida en CDC grupo 3 y grupo 5), es patógeno humano infrecuente, en principio aislado exclusivamente de la piel humana (Funke *et al.*, 1994) y con posterior reconocimiento de su potencial patogenicidad al ser aislados en sangre por primera vez (Gruner *et al.*, 1994), absceso cerebral en un paciente trasplantado renal (Bavbek *et al.*, 1998), sangre en dos pacientes con enfermedad grave de base (Gómez-Garcés *et al.*, 2001), peritonitis asociada a diálisis peritoneal (Radtko *et al.*, 2001), osteomielitis crónica (van Bosterhaut *et al.*, 2002) y en el 8% de las 50 bacteriemias por corineformes revisadas en un periodo de dos años (Babay y Kambal, 2004).

En estudios de corineformes aislados de muestras clínicas se ha recuperado en porcentaje similar a nuestro trabajo (10,2%) de 480 muestras diversas (Funke *et al.*, 1996b) y el 8% de 50 bacteriemias (Babay y Kambal, 2004). En este trabajo se aislaron cinco cepas de *Dermabacter hominis* (9,4% del total), todas procedentes de sangre en pacientes inmunocomprometidos, en cuatro pacientes con significación clínica: se aisló en cultivo puro en dos o más muestras tratándose de un caso de SIDA y linfoma no Hodgkin, dos pacientes

con fiebre de origen desconocido y diabetes y un quinto de un paciente febril en programa de diálisis peritoneal. En el paciente restante se aisló en una sola muestra de sangre, de significación clínica indeterminada. Se trata de un patógeno humano infrecuente, en principio aislado exclusivamente de la piel humana (Funke *et al.*, 1994) y posterior reconocimiento de su potencial patogenicidad al ser aislado por vez primera de sangre (Gruner *et al.*, 1994). Se han comunicado estudios de sensibilidad a antimicrobianos, coincidiendo todos en la sensibilidad a glicopéptidos, y con diferentes resultados en otros antimicrobianos, con publicaciones sucesivas en el tiempo, desde mostrar sensibilidad a la mayoría de los antimicrobianos estudiados incluidos macrólidos y clindamicina (Troxler *et al.*, 2001) a la resistencia en la mayoría a quinolonas, macrólidos y clindamicina (Babay y Kambal, 2004) y resistencia a la mayoría de los estudiados pero mostrando buena actividad linezolidina además de los glicopéptidos (Gómez-Garcés *et al.*, 2007).

Fueron identificadas cinco cepas de *Gordonia sputi* (9,4% del total) procedentes de cuatro muestras de sangre y una de catéter vascular en cinco pacientes. El cambio de denominación de *Gordona* (*Rhodococcus*) a *Gordonia* se produjo en 1997 (Stackebradt *et al.*, 1997). Es un microorganismo que se aísla del suelo y es patógeno infrecuente en patología infecciosa humana. Las diferentes especies de este género se han aislado de bacteriemias y endocarditis relacionadas con dispositivos intravasculares (Pham *et al.*, 2003; Lesens *et al.*, 2000; Verma *et al.*, 2006; Grisold *et al.*, 2007), otros dispositivos médicos (Jannat-Khah *et al.*, 2008) y casos aislados como de exudado ótico en contexto de una otitis externa (Iida *et al.*, 2005). La mayoría de estas infecciones se han producido en pacientes inmunodeprimidos adultos, aunque también en inmunocompetentes (Jannat-Khah *et al.*, 2008) y en pacientes pediátricos (Blaschke *et al.*, 2007). En nuestro trabajo, los pacientes con bacteriemia por *Gordonia sputi* fueron diagnosticados de adenocarcinoma de páncreas, adenocarcinoma de colon, neumonía y leucemia aguda mieloide portador de catéter permanente de Hickman. La IRC se produjo en un paciente diagnosticado de cirrosis con flebitis. Esta especie únicamente ha sido referida en la literatura médica con ocasión de un caso de mediastinitis secundaria a *by pass* coronario (Kuwwabara *et al.*, 1999) y dos casos de bacteriemia en pacientes inmunocomprometidos. Se trataba de un caso de bacteriemia en un paciente varón de 34 años diagnosticado de melanoma ocular tratado con interleukina 2 y con una lesión cutánea, que

posiblemente actuara como puerta de entrada del microorganismo (Riegel *et al.*, 1996b) y otro caso de bacteriemia y endocarditis en una paciente de 34 años esplenectomizada por hemoglobinopatía, multitransfundida, con cirrosis hepática y hemocromatosis secundarias y portadora de un catéter venoso central que fue la puerta de entrada para el asentamiento del microorganismo en la válvula cardíaca (Lesens *et al.*, 2000).

El género *Arthrobacter* ha estado representado en este estudio por cuatro cepas: *A. cummingsii* (2), *A. oxydans* (1), aisladas de sangre y una cepa sin identificación de especie aislada de un exudado cutáneo. Estas dos especies identificadas han sido descritas como las más frecuentes, en ese orden, en aislamientos de este género en muestras clínicas humanas diversas como sangre, orina, exudados, etc. (Mages *et al.*, 2008; Funke *et al.*, 1998e). Se ha relacionado este género con prostatitis (Türk *et al.*, 2007). Mages *et al.*, 2008 las describieron como las más frecuentes de este género aisladas de muestras clínicas humanas, en el que recientemente evalúan la identificación por secuenciación del gen 16S rADN de 50 cepas previamente identificadas como *Arthrobacter* spp. o *Arthrobacter-like*, observando que solo 38 de ellas pertenecían al verdadero género *Arthrobacter* (el resto fueron: 7 *Brevibacterium*, 2 *Microbacterium*, 1 *Pseudoclavibacter*, 1 *Leucobacter* y 1 *Brachibacterium*) a la vez que describen una nueva especie, *A. aurescens*. Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de la aplicación de técnicas diagnósticas moleculares y/o quimiotaxonómicas evitando identificaciones erróneas (falsos *Arthrobacter* spp. en publicaciones previas) y permitiendo su correcta caracterización (posiblemente infradiagnosticadas en la rutina diaria) (Funke *et al.*, 1998e). Del mismo modo estas técnicas hacen posible la descripción de nuevas especies, como ocurre con la cepa identificada por ahora en nuestro estudio como *Arthrobacter* sp.

Es destacable, por su rareza, la caracterización de otros géneros no pertenecientes al género *Corynebacterium* aunque el número de aislados haya sido igual o menor a cuatro, pero de escasa o nula referencia en la literatura médica y de muestras normalmente estériles. En este estudio se detectaron cuatro bacteriemias por *Janibacter* spp. (*J. Sanguinis* (3) en relación con neumonía, colangitis y linfoma no Hodgkin respectivamente, y *J. limosus* (1) en paciente diagnosticado de neoplasia gástrica y síndrome mielodisplásico. Solo se ha descrito un caso de bacteriemia en paciente diagnosticado de leucemia mieloide aguda por una especie no

identificada de *Janibacter* (Loubinoux *et al.*, 2005) y otra bacteriemia por *J. melonis* en paciente con inflamación y eritema en mitad derecha de la cara con antecedente de picadura de insecto en mejilla (Elsayed y Zhang, 2005).

Nuestro estudio aporta tres aislados del género *Dietzia*, un aislado de *D. cinnamea* a partir de líquido ascítico infectado de un paciente diagnosticado de cirrosis hepática, habiendo sido solo citada en la literatura médica en una ocasión y con motivo de su descripción (Yassin *et al.*, 2006) a partir de un frotis rectal en paciente trasplantado de médula ósea, y dos bacteriemias en pacientes oncohematológicos portadores de catéter vascular permanente de Hickman por *D. natronolimnaea*, una de ellas relacionada con el catéter en paciente diagnosticado de linfoma no Hodgkin con aplasia febril post-quimioterapia y recuperada de un subcultivo terminal de las botellas de hemocultivo, dato por otra parte infrecuente ya que solo el 0,17% de los subcultivos terminales son positivos (falsos negativos) en este sistema automático de hemocultivos, siendo uno de ellos por *Corynebacterium* sp. (Soloaga *et al.*, 2001), y otra en paciente diagnosticado de leucemia mieloide crónica. Esta especie no ha sido descrita previamente en relación con su aislamiento en muestras clínicas humanas causando enfermedad o no, siendo únicamente citada en relación a su caracterización taxonómica molecular para diferenciarla de otras especies (Yumoto *et al.*, 2002) y en relación a la posible fuente natural bacteriana de producción industrial de carotenoides y las condiciones de su cultivo (Khodaiyan *et al.*, 2007).

Otro hallazgo de interés en nuestro estudio fueron cinco aislados de *Microbacterium* en cuatro pacientes: tres bacteriemias por *M. oxydans*, dos de ellas en pacientes con neoplasia de colon y leucemia linfocítica crónica respectivamente, y una BRC en un paciente intervenido quirúrgicamente por traumatismo raquímedular y estancia prolongada en la Unidad de Cuidados Intensivos. El único caso publicado de BRC por *M. oxydans*, con caracterización molecular, en una paciente con leucemia mieloide crónica, se debe a Lau *et al.*, 2002. El aislado restante correspondió a *M. hominis*, causa de bacteriemia en una paciente febril de 23 años diagnosticada de linfoma no Hodgkin y únicamente se ha descrito su aislamiento a partir de un aspirado pulmonar con motivo de su descripción como nueva especie de este género (Takeuchi y Hatano, 1998).

En este estudio se recogen dos aislados de *Mycobacterium canariasense*, un caso de bacteriemia en cultivo puro y otro caso de infección de OSCDP en cultivo mixto con *C. amycolatum*. Los únicos casos publicados de esta micobacteria de crecimiento rápido corresponden a 17 bacteriemias, probablemente en el contexto de un brote nosocomial (Jiménez *et al.*, 2004; Campos-Herrero *et al.*, 2006).

Se identificaron cuatro aislados del género *Rothia* (3 *R. dentocariosa* y 1 *R. mucilaginosa*), 7,6% de los corineformes no-corinebacterias, en cuatro pacientes con bacteriemias significativas (dos muestras de sangre cada uno y en cultivo puro). Estos microorganismo son comensales de la cavidad oral y tracto respiratorio superior en humanos. La bacteriemia por *R. mucilaginosa* (antes *Stomatococcus mucilaginosus*) se observó en una paciente pluripatológica de 88 años que ingresó con diagnóstico de neumonía. *R. mucilaginosa* ya ha sido descrito como causa de neumonía (Fusconi *et al.*, 2009), bacteriemias (Vaccher *et al.*, 2007) y otros líquidos biológicos estériles ocasionando meningitis (Lee *et al.*, 2008) o artritis protésica (Michels *et al.*, 2007) sobre todo en pacientes inmunocomprometidos. Los tres casos de bacteriemia por *R. dentocariosa* se observaron en un paciente oncológico (neoplasia pulmonar) con sialoadenitis, un episodio de fiebre post-apendicectomía en varón adulto joven sin antecedentes de interés y en otra paciente con fiebre posterior a realización de cateterismo coronario. *R. dentocariosa* ha sido relacionado con enfermedad periodontal, caries y diversos cuadros de patología infecciosa como bacteriemia (Yang *et al.*, 2007), endocarditis (Sadhu *et al.*, 2005), peritonitis en pacientes dializados, (Morris *et al.*, 2004) o úlcera corneal (Morley y Tuft, 2006) y se indica la importancia de su adecuada valoración clínica. Todos los casos fueron tratados con antibióticos adecuados y evolucionaron bien.

Rhodococcus fascians es un fitopatógeno que induce hiperplasia en sus huéspedes mediante la secreción de citoquinas (Depuydt *et al.*, 2009) y también ha sido identificado como uno de los corineformes que componen la microflora de la superficie de quesos (Valdés-Stauber *et al.*, 1997). En este trabajo se obtuvieron dos aislados (colonias húmedas, amarillo-anaranjadas), 3,8% de los corineformes no-corinebacterias: un caso de bacteriemia en una paciente neutropénica febril con diagnóstico de linfoma no Hodgkin y otro caso de IRC en una paciente diagnosticada de lupus eritematoso diseminado a la que no se practicaron hemocultivos. En ambos casos recibieron tratamiento antibiótico adecuado según

antibiograma y la evolución del episodio fue buena. Se ha estudiado la exposición ocupacional a polvo orgánico, observándose que *R. fascians* estuvo presente en todas las muestras, siendo la tercera bacteria Grampositiva más frecuente (Góra *et al.*, 2009), pero no se han encontrado referencias a patología infecciosa humana por esta bacteria corineforme. Se estudiaron otras dos bacteriemias significativas: una por *Actinomyces naeslundii* (tres muestras de sangre en cultivo puro) en un paciente con fiebre e imagen de condensación pulmonar diagnosticado de leucemia linfocítica crónica y otra por *Listeria monocytogenes* (dos muestras de sangre en cultivo puro) en paciente trasplantado renal con tratamiento inmunosupresor. Ambos microorganismos han sido considerados como patógenos oportunistas, *A. naeslundii* en relación con caries dental y enfermedad periodontal (Moore *et al.*, 1987), y *L. monocytogenes*, causa de sepsis, meningitis y encefalitis en pacientes inmunocomprometidos (Schuchat *et al.*, 1991).

i) Análisis del significado clínico por especies (definitivo, probable, posible e indeterminado)

Se valoró como significado clínico definitivo, la más frecuente de las categorías en el 43,1% de los pacientes. Teniendo en cuenta el significado clínico definitivo o probable, las especies con mayor significación clínica fueron *C. jeikeium*, *C. ureicelerivorans* y, *C. urealyticum* aunque la única especie que se relacionó con significación estadística fue *C. jeikeium* (p: 0, 002). Se acercan a la media *C. striatum* y *C. coyleae* al sumar los dos criterios pero sin significación estadística y las dos especies con menor significado clínico fueron *C. aurimucosum* y *C. amycolatum*, frecuentes en las bacteriemias neonatales y en catéteres ambas situaciones donde predominaron los criterios de posible e indeterminado por tratarse de muestras únicas.

La relevancia, tanto por su incidencia, diversidad y gravedad de los procesos infecciosos relacionados con *C. jeikeium* ha sido ampliamente descrito (Johnson *et al.*, 1992; Klibanov *et al.*, 2003; Mookadan *et al.*, 2006; Funke *et al.*, 2007; Belmares *et al.*, 2007) y patología de base que coincide con lo observado en los 19 pacientes donde se aisló *C. jeikeium* en este estudio, a partir de sangre en 18 casos y uno solo en catéter vascular. Todos fueron adultos, de predominio masculino, instrumentalizados (IRC, BRC, endocarditis sobre válvula protésica), e inmunodeprimidos (patología oncohematológica con catéteres permanentes, SIDA, neutropenia

febril post-quimioterapia, etc.) pero no en pacientes con neoplasias de órgano sólido como se observó en *C. striatum*.

El 73,7% de las bacteriemias neonatales tuvo un significado clínico indeterminado por ser extracción de sangre única y no documentar su aislamiento por no ser reconocidas o valoradas en otro tipo de muestra. Solo en 9 (23,7%) de ellas producidas por *C. amycolatum* fue definitivo y en una bacteriemia mixta de *C. amycolatum* y *C. coyleae* de probable por aislarse además de en sangre, en exudado conjuntival en un caso de conjuntivitis neonatal.

j) Tratamiento y evolución

Excluyendo aquellos pacientes de los que no se obtuvo información sobre su evolución, se observó curación en 180 pacientes (86,5%) y exitus en los restantes 28 (13,5%). Cuando se analizó la evolución en relación al tratamiento administrado ésta fue de curación en el 89,3% de los tratados adecuadamente frente al 41,7% de los que recibieron tratamiento inadecuado ($p: 0,000$; OR: 11,7; IC95%: 3,6-38,1). Estos datos, no solo confirman la importancia de realizar un tratamiento adecuado sino que, de forma indirecta, apoyan la patogenicidad de las corinebacterias.

En el 49,5% de los casos (108 pacientes) recibieron tratamiento antibiótico combinado y el grupo de antibióticos más utilizados fue el de betalactámicos. Como resultado observado en el estudio de sensibilidad antibiótica en este trabajo, se observó que los betalactámicos pueden ser una buena opción terapéutica en las infecciones por *C. aurimucosum*, *C. ureicelerivorans* (100% de sensibilidad) y en *C. striatum*, *C. coyleae* y *C. afermentans* subsp. *afermentans*, con mayor actividad de ampicilina ($\geq 94,7\%$) que penicilina ($\geq 52,6\%$) e imipenem ($\geq 97\%$) que ertapenem ($\geq 87,2\%$). En las especies multirresistentes, su asociación con aminoglucósidos, podría ser útil en infecciones por *C. amycolatum* (97,1% sensibles) pero no en las producidas por *C. jeikeium* y *C. urealyticum* multirresistentes, en las que será preciso recurrir a glicopéptidos u otras alternativas terapéuticas. Los aminoglucósidos pueden ser antibióticos de elección en el tratamiento de infecciones por corinebacterias pero en combinación con otros antibióticos, fundamentalmente betalactámicos, en infecciones graves como endocarditis (Murray *et al.*, 1980; Soriano *et al.*, 1995).

Todos los neonatos recibieron tratamiento adecuado y combinado de betalactámico y aminoglucósido (ampicilina y gentamicina) y todas las corinebacterias aisladas fueron sensibles al menos a uno de los dos antibióticos, cuya administración fue seguida a la toma de muestra/s, y su evolución fue favorable.

El poder patógeno de los microorganismos del género *Corynebacterium* no ha de ser desestimado, particularmente en los pacientes de alto riesgo: inmunocomprometidos, instrumentalizados y hospitalización prolongada. La presencia de signos y síntomas de infección, el aislamiento en cultivo puro, la presencia de leucocitos en el lugar de la infección, establecen una relación causa-efecto. Las corinebacterias pueden ser multirresistentes a antibióticos o presentar resistencia a grupos de antibióticos, siendo necesario realizar pruebas de susceptibilidad antibiótica, ya que su sensibilidad no siempre es predecible. El pronóstico de la infección está relacionado con la precocidad de la instauración de la terapia antibiótica adecuada, confirmando de manera indirecta la relevancia clínica de los aislados de especies del género *Corynebacterium* en muestras clínicas.

Addendum

Tres nuevas especies del género *Corynebacterium* han sido descritas con posterioridad a la redacción de este trabajo, una de origen humano, *Corynebacterium sputi* sp. nov., (Yassin y Siering, 2008) aislada de esputo en un paciente con neumonía y estrechamente relacionada en su filogenia con *C. amycolatum*, *C. freneyi*, *C. hansenii*, *C. xerosis* y *C. sphenisci*, todas ellas fermentativas no lipófilas; otra de origen animal, *Corynebacterium ulceribovis* sp. nov., (Yassin, 2009) aislada de una lesión ulcerada profunda en un cuadro de mastitis en vaca, y otra aislada de un lubricante refrigerante, *Corynebacterium lubricantis* sp. nov., (Kämpfer *et al.*, 2009) con alta semejanza genotípica con *C. pylosum*.

6. CONCLUSIONES

1. En el estudio bacteriológico de muestras clínicas seleccionadas se aislaron bacterias corineformes en el 3,7% de las mismas (431 de un total de 47.360 muestras) perteneciendo el 82,3% al género *Corynebacterium*.

2. Las especies más frecuentemente identificadas del género *Corynebacterium* fueron: *C. amycolatum* (30,9%), *C. striatum* (13,5%), *C. coyleae* (10,9%) y *C. jeikeium* (9,3%). Entre los corineformes no pertenecientes al género *Corynebacterium* predominó: *Brevibacterium* spp. (31,9%), *Dermabacter hominis* (9,4%) y *Gordona sputi* (9,4%).

3. La concordancia de la identificación fenotípica con el análisis de la fracción 16S del ADN ribosómico fue del 14,2% para el sistema API Coryne™ V2.0, 90,3% para el sistema API Coryne™ V2.0 con pruebas complementarias y del 70,0% para el sistema Biolog™ GP2. Puede concluirse, por tanto, que el sistema API Coryne™ V2.0 añadido de pruebas complementarias puede ser un método adecuado para la identificación de estos microorganismos.

4. Todos los aislados del género *Corynebacterium* fueron sensibles a vancomicina (CMI <2 mg/L) y linezolid (CMI <1 mg/L). Otros antibióticos significativamente activos fueron: ácido fusídico, telitromicina, tetraciclina y quinupristina/dalfopristina.

5. La tasa de resistencia a ampicilina fue superior al 90% en *C. amycolatum*, *C. jeikeium* y *C. urealyticum* y menor del 6% en *C. coyleae*, *C. aurimucosum*, *C. ureicelerivorans*, *C. striatum* y *C. afermentans* subsp. *afermentans*.

6. Se observó una alta tasa de resistencia a eritromicina (51,5-100%) y a clindamicina (62,5-100%) entre las diferentes especies identificadas haciendo poco recomendable el tratamiento empírico con estos antibióticos. El fenotipo de resistencia a antibióticos del grupo

MLS_B fue MLS_B constitutivo (85,5%), seguido del fenotipo M eflujo (6,6%) y MLS_B inducible (1,9%). El gen *erm(X)* fue detectado en 88 de los 93 aislados con fenotipo de resistencia MLS_B (94,6%).

7. La resistencia global a los antibióticos fue mucho más alta en *C. urealyticum*, *C. amycolatum*, *C. jeikeium* y *C. striatum*, mientras que fue más baja en *C. afermentans* subsp. *afermentans*, *C. coyleae*, *C. aurimucosum* y *C. ureicelerivorans*.

8. Las especies que más se asociaron a aislamiento con significado clínico (definitivo y probable) fueron *C. jeikeium* (84,2%), *C. ureicelerivorans* (83,3%) y *C. urealyticum* (75,0%). Por el contrario, las especies con menor significado clínico fueron *C. aurimucosum* (25,0%) y *C. amycolatum* (38,0%).

9. Se observó una diferencia estadísticamente significativa (p : 0,000; OR: 11,7; IC95%: 3,6-38,1) entre la evolución favorable o no y el tratamiento administrado. Cuando el fármaco era activo *in vitro* frente al microorganismo la evolución fue favorable en el 89,3% de los casos mientras que, en caso contrario, dicha evolución favorable aconteció sólo en el 41,7% de los casos.

7. BIBLIOGRAFÍA

Abe S, Takayama K, Kinoshita S. Taxonomic studies on glutamic acid-producing bacteria. J Gen Appl Microbiol 1967; 13: 279-301.

Achard A, Guérin-Faublée V, Pichereau V, Villers C, Leclercq R. Emergence of macrolide resistance gene *mph*(B) in *Streptococcus uberis* and cooperative effects with *rdmC*-like gene. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 2767-70.

Adderson EE, Boudreaux JW, Hayden RT. Infections caused by coryneform bacteria in pediatric oncology patients. Pediatr Infect Dis J 2008; 27: 136-41.

Ahmad NM, Ahmad KM. *Corynebacterium minutissimum* pyelonephritis with associated bacteraemia: a case report and review of literature. J Infect 2005; 51: 299-303.

American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Comitee. Definition for sepsis and organfailures and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Chest 1992; 101: 1658-62.

Aperis G, Moyssakis I. *Corynebacterium minutissimum* endocarditis: a case report and review. J Infect 2007; 54: 79-81.

Aracil B, Perea B, Barros C, Gómez-Garcés JL. Bacteremia caused by *Corynebacterium urealyticum* in 2 patients co-infected with HIV and HBV. Enferm Infecc Microbiol Clin 1997; 15: 172-3.

Arai Y, Tomoyoshi T, Takeuchi H. An experimental study of infection stone formation by *Corynebacterium* species. Hinyokika Kiyo 1997; 43: 115-21.

Arnold AZ. *Corynebacterium* endocarditis. Difficult diagnosis in an elderly woman. Postgrad Med 1987; 81: 283-7.

Aubel D, Renaud FN, Freney J. Genomic diversity of several *Corynebacterium* species identified by amplification of the 16S-23S rRNA gene spacer regions. Int J Syst Bacteriol 1997; 47: 767-72.

Babay HA, Kambal AM. Isolation of coryneform bacteria from blood cultures of patients at a University Hospital in Saudi Arabia. Saudi Med J 2004; 25: 1073-9.

Bailiff NL, Westropp JL, Jang SS, Ling GV. *Corynebacterium urealyticum* urinary tract infection in dogs and cats: 7 cases (1996–2003). J Am Vet Med Assoc 2005; 226: 1676-80.

Balci I, Eksi F, Bayram A. Coryneform bacteria isolated from blood cultures and their antibiotic susceptibilities. J Int Med Res 2002; 30: 422-7.

Banai S, Selitser V, Keren A, Benhorin J, Shitrit OB, Yalon S, Halperin E. Prospective study of bacteremia after cardiac catheterization. Am J Cardiol 2003; 15: 92: 1004-7.

Bandera A, Gori A, Rossi MC, Degli Esposti A, Ferrario G, Marchetti G, Tocalli L, Franzetti F. A case of costochondral abscess due to *Corynebacterium minutissimum* in an HIV-infected patient. J Infect 2000; 41: 103-5

Barreau C, Bimet F, Kiredjian M, Rouillon N, Bizet C. Comparative chemotaxonomic studies of mycolic acid-free coryneform bacteria of human origin. J Clin Microbiol 1993; 31: 2085-90.

Bavbek M, Caner H, Arslan H, Demirhan B, Tunçbilek S, Altınörs N. Cerebral *Dermabacter hominis* abscess. Infection 1998; 26: 181-3.

Belko J, Wessel DL, Malley R. Endocarditis caused by *Corynebacterium diphtheriae*: case report and review of the literature. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19: 159-63.

Belmares J, Detterline S, Pak JB, Parada JP. *Corynebacterium* endocarditis species-specific risk factors and outcomes. *BMC Infect Dis* 2007; 7: 4.

Benes J, Pícha D, Kabelková M, Džupová O, Horová B, Gabrielová A. Infective endocarditis caused by unusual gram-positive pathogens. *Folia Microbiol (Praha)*. 2002; 47: 737-41.

Bergey DH, Harrison FC, Breed RS, Hammer BW, Huntoon FM. *Bergey's Manual of determinative Bacteriology*, pp 1-442. 1st ed. 1923, The Willians & Wilkins Co, Baltimore.

Bernard KA, Munro C, Wiebe D, Ongansoy E. Characteristics of rare or recently described *Corynebacterium* species recovered from human clinical material in Canada. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4375-81.

Bernard KA. *Corynebacterium* species and coryneforms: an update on taxonomy and diseases attributed to these taxa. *Clin Microbiol Newsl* 2005; 27: 9-18.

Berner R, Pelz K, Wilhelm C, Funke A, Leitis JU, Brandis M. Fatal sepsis caused by *Corynebacterium amycolatum* in a premature infant. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1011-2.

Bezirtzoglou E, Romond C. Nosocomial infections of ocular conjunctiva in newborns delivered by cesarian section. *Ophthalmic Res* 1991; 23: 79-83.

Bhat Y, Bal AM, Rochow S, Gould IM. An unusual case of *Corynebacterium striatum* endocarditis and a review of the literature. *Int J Infect Dis* 2008; 12: 672-4.

Björkroth J, Korkeala H, Funke G. rRNA gene RFLP as an identification tool for *Corynebacterium* species. Int J Syst Bacteriol 1999; 49: 983-9.

Blaschke AJ, Bender Jeffrey, Byington CL, Korgenski K, Daly J, Petti CA, Pavia AT, Ampofo K. *Gordonia* species: emerging pathogens in pediatric patients that are identified by 16S ribosomal RNA gene sequencing. Clin Inf Dis 2007; 45: 483-6.

Blot F, Schmidt E, Nitenberg G, Tancrede C, Leclercq B, Laplanche A, Andreumont A. Earlier positivity of central venous versus peripheral-blood cultures is highly predictive of catheter related sepsis. J Clin Microbiol 1998; 36: 105-9.

Booth LV, Ellis C, Wale MC, Vyas S, Lowes JA. An atypical case of *Corynebacterium diphtheriae* endocarditis and subsequent outbreak control measures. J Infect 1995; 31: 63-5.

Booth LV, Richards RH, Chandran DR. Septic arthritis caused by *Corynebacterium xerosis* following vascular surgery. Rev Infect Dis 1991; 13: 548-9.

Bosshard PP, Abels S, Zbinden R, Böttger EC, Altwegg M. Ribosomal DNA sequencing for identification of aerobic Gram-positive rods in the clinical laboratory (an 18-month evaluation). J Clin Microbiol 2003; 41: 4134-40.

Bowstead TT, Santiago SM. Pleuropulmonary infection due to *Corynebacterium striatum*. Br J Dis Chest 1980; 74: 198-200.

Brennan NM, Brown R, Goodfellow M, Ward AC, Beresford TP, Simpson PJ, Fox PF, Cogan TM. *Corynebacterium mooreparkense* sp. nov. and *Corynebacterium casei* sp. nov., isolated from the surface of a smear-ripened cheese. Int J Syst Evol Microbiol 2001; 51: 843-52.

Burd EM, Juzych LA, Rudrik JT, Habib F. Pustular dermatitis caused by *Dermatophilus congolensis*. J Clin Microbiol 2007; 45: 1655-8.

Campos-Herrero MI, García D, Figuerola A, Suárez P, Campo C, García MJ. Bacteremia caused by the novel species *Mycobacterium canariasense*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006; 25: 58-60.

Cantarelli VV, Brodt TC, Secchi C, Inamine E, Pereira F, Pilger DA. Fatal case of bacteremia caused by an atypical strain of *Corynebacterium mucifaciens*. Braz J Infect Dis 2006; 10: 416-8.

Cantarelli VV, Brodt TC, Secchi C, Inamine E, Pereira Fde S. Cutaneous infection caused by *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*: a microbiological report. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2008; 50: 51-2.

Cattani S, Venturelli C, Berardi A, Buffetti C, De Caris V, Casolari C, Piccinini L, Pastorelli S, Della Casa Muttini E, Gallo C, Rumpianesi F, Ferrari F. Sepsis caused by *Corynebacterium xerosis* in neonatology: report of a clinical case. Acta Biomed Ateneo Parmense 2000; 71: 777-80.

Cerdeño-Tárraga AM, Efstratiou A, Dover LG, Holden MTG, Pallen M, Bentley SD, Besra GS, Churcher C, James KD, De Zoysa A, Chillingworth T, Cronin A, Dowd L, Feltwell T, Hamlin N, Holroyd S, Jagels K, Moule S, Quail MA, Rabinowitsch E, Rutherford KM, Thomson NR, Unwin L, Whitehead S, Barrell BG, Parkhill J. The complete sequence and analysis of *Corynebacterium diphtheriae* NCTC13929. Nucleic Acids Res 2003; 31: 6516-23.

Cericco M, Iglicki F, Guillaumont MP, Schmitt JL, Dupas JL, Capron JP. *Corynebacterium xerosis* endocarditis associated with alcoholic cirrhosis. Gastroenterol Clin Biol 1996; 20: 514.

Cesaro S, Cavaliere M, Spiller M, Rossi L, Magagna L, Gavin P, Bonetto M, Carli M. A simplified method of antibiotic lock therapy for Broviac-Hickman catheters using a CLC 2000 connector device. *Support Care Cancer* 2007; 15: 95-9.

Challier P, Girardet JP, Fontaine JL. Infective endocarditis in children. Apropos of 13 cases. *Ann Pediatr (Paris)* 1989; 36: 26-32.

Chantraine P. Dictionaire étymologique de la langue grecque. Histoire des mots. Ed. Klincksieck, Paris 1990, sub uoce.

Chen HH, Li WJ, Tang SK, Kroppenstedt RM, Stackebrandt E, Xu LH, Jiang CL. *Corynebacterium halotolerans* sp. nov., isolated from salines oil in the best of China. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004; 54: 779-82.

Chen SC, Sorrell TC, Dwyer DE, Collignon PJ, Wright EJ. Endocarditis associated with prosthetic cardiac valves. *Med J Aust* 1990; 152: 458, 461-3.

Chudnicka A, Koziol-Montewka M. Characteristics of opportunistic species of the *Corynebacterium* and coryneforms isolated from different clinical materials. *Ann Univ Marie Curie Skłodowska* 2003; 58: 385-91.

Chung CS, Liao CH, Cheng SL, Lin TH, Hsueh PR. Percutaneous nephrostomy tube-associated bacteremia caused by *Corynebacterium urealyticum*. *J Microbiol Immunol Infect* 2008; 41: 525-7.

Claeys G, Vanhouteghem H, Riegel P, Wauters G, Hamerlynck R, Dierick J, de Witte J, Verschraegen G, Vanechoutte M. Endocarditis of native aortic and mitral valves due to

Corynebacterium accolens: report of a case and application of phenotypic and genotypic techniques for identification. J Clin Microbiol 1996; 34: 1290-2.

Clark I, Burnie JP, Coke AP, Matthews RC, Oppenheim BA. Characterization of the antibody response in *Corynebacterium jeikeium* septicaemias. Epidemiol Infect 1990; 105: 229-36.

Clarke R, Qamruddin A, Taylor M, Panigrahi H. Septic arthritis caused by *Corynebacterium amycolatum* following vascular graft sepsis. J Infect 1999; 38: 126-7.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement 2006. CLSI document M100-S16 [ISBN 1-56238-588-7]. CLSI, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline. 2007. CLSI document M45-A [ISBN 1-56238-607-7]. CLSI, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.

Cohen DJ, Malave D, Guidoni JJ, Lakovidis P, Everett MM, You S, Liu Y, Boyan BD, Role of oral bacterial flora in calcific aortic stenosis an animal model. Ann Thorac Surg 2004; 77: 537-43.

Collins MD, Goodfellow M, Minnikin DE. A survey of the structures of mycolic acids of the genus *Corynebacterium* and possibly related taxa. J. Gen. Microbiol 1982; 128: 129-49.

Collins MD. *Corynebacterium mycetoides* sp. nov., nom. rev. Int J Syst Bacteriol 1983; 33: 438-40.

Collins MD, Jones D. *Corynebacterium minutissimum* sp. nov., nom. rev. Int J Syst Bacteriol 1983; 33: 870-1.

Collins MD. Transfer of *Brevibacterium ammoniagenes* (Cook and Keith) to the genus *Corynebacterium* as *Corynebacterium ammoniagenes* com. nov. Int J Syst Bacteriol 1987; 37: 442-3.

Collins MD, Burton RA, Jones D. *Corynebacterium amycolatum* sp. nov., a new acid-less *Corynebacterium* species from human skin. FEMS Microbiol Lett 1988; 49: 349-52.

Collins MD, Falsen E, Akervall E, Sjöden B, Alvarez A. *Corynebacterium kroppenstedtii* sp. nov., a novel *Corynebacterium* that does not contain mycolic acids. Int J Syst Bacteriol 1998; 48: 1449- 54.

Collins MD, Bernard KA, Hutson RA, Sjöden B, Nyberg A, Falsen E. *Corynebacterium sundsvallense* sp. nov., from human clinical specimens. Int J Syst Bacteriol 1999; 49: 361-6.

Collins MD, Hoyles L, Lawson PA, Falsen E, Robson RL, Foster G. Phenotypic and phylogenetic characterization of a new *Corynebacterium* species from dogs; description of *Corynebacterium auriscanis* sp. nov., J Clin Microbiol 1999; 37: 3443-7.

Collins MD, Hoyles L, Foster G, Sjöden B, Falsen E. *Corynebacterium capitovis* sp. nov., from a sheep. Int J Syst Bacteriol 2001; 51: 857-60.

Collins MD, Hoyles L, Hutson RA, Foster G, Falsen E. *Corynebacterium testudinoris* sp. nov., from a tortoise, and *Corynebacterium felinum* sp. nov., from a Scottish wild cat. Int J Syst Evol Microbiol 2001; 51: 1349-52.

Collins MD, Hoyles L, Foster G, Falsen E. *Corynebacterium caspium* sp. nov., from a Caspian seal (*Phoca caspica*). Int J Syst Evol Microbiol 2004; 54: 925-8.

Coman G, Brumariu O, Petraru E, Cucer F, Muneanu M. *Corynebacterium urealyticum* in urinary infections in children. Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol 1998; 43: 47-51.

Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué 2005. Bulletin de la Société Française de Microbiologie: 1-49.

Conway AM, Smith MG, Obeid M. Diphtheroid infection of a total knee arthroplasty following femoral percutaneous transluminal coronary angioplasty. Acta Orthop Belg 2006; 72: 366-8.

Coyle MB, Lipsky BA. Coryneform bacteria in infectious diseases: clinical and laboratory aspects. Clin Microbiol Rev 1990; 3: 227-46.

Coyle MB, Leonard RB, Nowowiejski DJ. Pursuit of the *Corynebacterium striatum* type strain. Int J Syst Bacteriol 1993; 43: 848-51.

Crabtree JH, García NA. *Corynebacterium striatum* peritoneal dialysis catheter exit-site infection. Clin Nephrol 2003; 60: 270-4.

Creagh R, Saavedra JM, Rodríguez FJ, Rodríguez P, Merino MD. Pneumonia caused by *Corynebacterium striatum* in a patient with AIDS. Enferm Infecc Microbiol Clin 2000; 18: 297-8.

Dalal A, Likhi R. *Corynebacterium minutissimum* bacteremia and meningitis: a case report and review of literature. J Infect 2008; 56: 77-9.

Dalal A, Urban C, Segal-Maurer S. Endocarditis due to *Corynebacterium amycolatum*. J Med Microbiol 2008; 57: 1299-302.

Daneshvar MI, Hollis DG, Weyant RS, Jordan JG, MacGregor JP, Morey RE, Whitney AM, Brenner DJ, Steigerwalt AG, Helsel LO, Raney PM, Patel JB, Levett PN, Brown JM. Identification of some charcoal-black-pigmented CDC fermentative coryneform group 4 isolates as *Rothia dentocariosa* and some as *Corynebacterium aurimucosum*: proposal of *Rothia dentocariosa* emend. Georg and Brown 1967, *Corynebacterium aurimucosum* emend. Yassin et al., 2002, and *Corynebacterium nigricans* Shukla et al., 2003 pro synonym. *Corynebacterium aurimucosum*. J Clin Microbiol 2004; 42: 4189-98.

Daniëls C, Schoors D, Van Camp G. Native valve endocarditis with aorta-to-left atrial fistula due to *Corynebacterium amycolatum*. Eur J Echocardiogr 2003; 4: 68-70.

De Briel D, Couderc F, Riegel P, Jehl F, Minck R. High-performance liquid chromatography of corynomycolic acids as a tool in identification of *Corynebacterium* species and related organisms. J Clin Microbiol 1992; 30: 1407-17.

De Miguel I, Rodríguez E, Martín AM. *Corynebacterium amycolatum*: sepsis en pacientes hematológicos. Enferm Infecc Microbiol Clin 1999; 17: 340-1.

Depuydt S, Trenkamp S, Fernie AR, Elftieh S, Renou JP, Vuylsteke M, Holsters M, Vereecke D. An integrated genomics approach to define niche establishment by *Rhodococcus fascians*. Plant Physiol 2009; 149:1366-86.

Devriese LA. Two new types of resistance to lincomycin in pathogenic staphylococci from animal. Ann Microbiol (Paris) 1980; 131B: 261-6.

Devriese LA, Riegel P, Homme J, Vaneechoutte M, de Baere T, Haesebrouck F. Identification of *Corynebacterium glucuronolyticum* strain from the urogenital tract of humans and pigs. J Clin Microbiol 2000; 38: 4657-9.

De Zoysa A, Hawkey PM, Engler K, George R, Mann G, Reilly WE, Taylor D, Efstratiou A. Characterization of toxigenic *Corynebacterium ulcerans* strains isolated from humans and domestic cats in the United Kingdom. J Clin Microbiol 2005; 43: 4377-81.

De Zoysa A, Hawkey PM, Charlett A, Efstratiou A. Comparison of four molecular typing methods for characterisation of *Corynebacterium diphtheriae*: transcontinental spread of *C. diphtheriae* based on BstEII rRNA gene profiles. J Clin Microbiol 2008; 46: 3626-35.

Dietrich MC, Watson DC, Kumar ML. *Corynebacterium* group JK infections in children. Pediatr Infect Dis J 1989; 8: 233-6.

Digenis G, Dombros N, Devlin R, Rosa SD, Pierratos A. Struvite stone formation by *Corynebacterium* group F1: a case report. J Urol 1992; 147: 169-70.

Dowd SE, Wolcott RD, Sun Y, Mckeehan, Smith E, Rhoads D. Polymicrobial nature of chronic diabetic foot ulcer biofilm infections determined using bacterial tag encoded FLX amplicon pyrosequencing (bTEFAP). PloS ONE 2008; 3: e3326.

Drancourt M, Bollet C, Carlioz A, Martelin R, Gayral JP, Raoult D. Sequence analysis of a large collection of environmental and clinical unidentifiable bacterial isolates. J Clin Microbiol 2000; 38: 3623-30.

Durandy Y, Hulin S. Acute *Corynebacterium diphtheriae* aortic endocarditis with negative blood cultures. Arch Pediatr 1999; 6: 1196-8.

Dutly FM, Grubenmann M, Goldenberger D. Eye infection in a young patient caused by *Corynebacterium bovis*: microbiological methods and 16S rRNA sequencing. Clin Microbiol Newsl 2003; 26: 5-7.

Ebersson F. A bacteriologic study of the diphtheroid organisms with special reference to Hodgkin's disease. J Infect Dis 1918; 23: 1-42.

Eliakim R, Silkoff P, Lugassy G, Michel J. *Corynebacterium xerosis* endocarditis. Arch Intern Med 1983; 143: 1995.

Ena J, Berenguer J, Peláez T, Bouza E. Endocarditis caused by *Corynebacterium* group D2. J Infect 1991; 22(1): 95-6.

Engler KH, Glushkevich T, Mazurova IK, George RC, Efstratiou A. A modified Elek test for detection of toxigenic corynebacteria in the diagnostic laboratory. J Clin Microbiol 1997; 35: 495-8.

Engler KH, Efstratiou A, Norn D, Kozlov RS, Selga I, Glushkevich T, Tam M, Melnikov VG, Mazurova IK, Tseeva GY, Titov LP, George RC. Immunocromatographic strip test for rapid detection of diphtheria toxin: description and multicenter evaluation in areas of low and high prevalence of diphtheria. J Clin Microbil 2002; 40: 80-3.

Esteban J, Soriano F. Bacilos grampositivos difteromorfos inhabituales en muestras clínicas: estado actual de la taxonomía y significado clínico. Enferm Infecc Microbiol Clin 1997; 15: 203-11.

Esteban J, Nieto E, Calvo R, Fernández-Roblas R, Valero-Guillén PL, Soriano F. Microbiological characterization and clinical significance of *Corynebacterium amycolatum* strains. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1999; 18: 518-21.

Evtushenko LI, Dorofeeva LV, Subbotin SA, Cole JR, Tiedje JM. *Leifsonia poae* gen. nov., sp. isolated from nematode gall on *Poa annua*, and reclassification of "*Corynebacterium aquaticum*" Leifson 1962 as *Leifsonia aquatica* (ex Leifson 1962) gen. nov., nom. rev., comb. nov., and *Clavibacter xyli* Davis et al. 1984 with two subspecies as *Leifsonia xyli* (Davis et al. 1984) gen. nov., comb. nov. Int J Syst Bacteriol 2000; 50: 371-80.

Fariñas MC, García-Palomo JD, Gutiérrez-Cuadra M. Infección asociada a catéteres de hemodiálisis y diálisis peritoneal. Enferm Infecc Microbiol Clin 2008; 26: 518-26.

Fernández-Garayzábal JF, Collins MD, Hutson RA, Fernández E, Monasterio R, Marco R, Domínguez L. *Corynebacterium mastitidis* sp. nov., isolated from milk of sheep with subclinical mastitis. Int J Syst Bacteriol 1997; 47: 1082-5.

Fernández-Garayzábal JF, Collins MD, Hutson RA, González I, Fernández E, Domínguez L. *Corynebacterium camporealensis* sp. nov., associated with subclinical mastitis in sheep. Int J Syst Bacteriol 1998; 48: 463-8.

Fernández-Garayzábal JF, Collins MD, Hutson RA, González I, Fernández E, Domínguez L. Isolation of *Corynebacterium falsenii* and description of *Corynebacterium aquilae* sp. nov., from eagles. Int J Syst Bacteriol 2003; 53: 1135-8.

Fernández-Garayzábal JF, Vela AI, Egido R, Hutson RA, Lanzarot MP, Fernández- García M, Collins MD. *Corynebacterium ciconiae* sp. nov., isolated from the trachea of black storks (*Ciconia nigra*). Int J Syst Evol Microbiol 2004; 54: 2191-5.

Fernández-Natal MI, García Díez F, Salas Valien JS, Cachón García F, Soriano García F. Cistitis incrustante con aislamiento de *Corynebacterium* grupo D2. Med Clin 1992; 98: 419-22.

Fernández-Natal MI, Guerra JM, Alcoba M, Cachón F, Soriano F. Bacteraemia caused by multiply resistant *Corynebacterium urealyticum*: six cases and review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001; 20: 514-7.

Fernández-Natal MI, Sáez-Nieto JA, Fernández-Roblas R, Asencio M, Valdezate S, Lapeña S, Guerra JM, Remacha MA, Blanco J, Cachón F, Soriano F. *Corynebacterium coyleae*: caracterización microbiológica, estudio de resistencias y significado clínico. Enferm Infecc Microbiol Clin 2006; 24: 74-5.

Fernández-Natal MI, Sáez-Nieto JA, Fernández-Roblas R, Asencio M, Valdezate S, Lapeña S, Rodríguez-Pollán RH, Guerra JM, Blanco J, Cachón F, Soriano F. Isolation of *Corynebacterium coyleae* from clinical samples: clinical and microbiological data. Eur J Clin Microbiol 2008; 27: 177-84.

Fernández-Natal MI, Sáez-Nieto JA, Valdezate S, Rodríguez-Pollán RH, Lapeña S, Cachón F, Soriano F. Isolation of *Corynebacterium ureicelerivorans* from normally sterile sites in humans. Eur J Clin Microbiol 2009; 28: 677-81.

Fernández-Roblas R, Fernández-Natal MI, Ortiz A, Zamora N, Valdezate S, Sáez Nieto JA, Esteban J. Caracterización de los mecanismos de resistencia a macrólidos en difteromorfos aislados de muestras clínicas. Enferm Infecc Microbiol Clin 2006; 24: 130.

Ferrer I, Marne C, José Revillo M, Isabel López A, José Velasco J, Bautista García-Moya J. Infección urinaria por *Corynebacterium riegellii*. Enferm Infecc Microbiol Clin 2001; 19: 284-5.

Feurer C, Clermont D, Bimet F, Candréa A, Jackson M, Glaser P, Bizet C, Dauga C..

Taxonomic characterization of nine strains isolated from clinical and environmental specimens, and proposal of *Corynebacterium tuberculostearicum* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2004; 54: 1055-61.

Fontana MB, Bastos MC, Brandelli A. Peptide-like substances as antimicrobial barriers to

Corynebacterium sp. adhesion to silicone catheters. Lett Appl Microbiol 2007; 45: 324-9.

Fudou R, Jojima Y, Seto A, Yamada K, Kimura E, Nakamatsu T, Hiraishi, Yamanaka S.

Corynebacterium efficiens sp. nov., a glutamic-acid-producing species from soil and vegetables. Int J Syst Evol Microbiol 2002; 52: 1127-31.

Funch PC, Barry AL, Brown SD. In-vitro antimicrobial activity of a carbapenem. MK-0826(L-

749,345) and provisional interpretative criteria for disc tests. J Antimicrob Chemother 1999; 43: 703-6.

Funch PC, Barry AL, Brown SD. In vitro activities of ertapenem (MK-0826) against clinical

bacterial isolates from 11 north American medical centers. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 1915-8.

Funke G, Carlotti A. Differentiation of *Brevibacterium* spp. Encountered in clinical specimens. J

Clin Microbiol 1994a; 32: 1729-32.

Funke G, Stubbs S, Pfyffer GE, Marchiani M, Collins MD. Characteristics of CDC group 3

and group 5 coryneform bacteria isolated from clinical specimens and assignment to the genus Dermabacter. J Clin Microbiol 1994b; 32: 1223-8.

Funke G, Bernard KA, Bucher C, Pfyffer GE, Collins MD. *Corynebacterium glucuronolyticum* sp. nov., isolated from male patients with genitourinary infections. Med Microbiol Lett 1995a; 4: 204-15.

Funke G, Lawson PA, Collins MD. Heterogeneity within Centers for Disease Control and Prevention coryneform group ANF-1-like bacteria and description of *Corynebacterium auris* sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1995b; 45: 735-9.

Funke G, Lawson PA, Bernard KA, Collins MD. Most *Corynebacterium xerosis* strains identified in the routine clinical laboratory correspond to *Corynebacterium amycolatum*. J Clin Microbiol 1996a; 34: 1124-8.

Funke G, Pünter V, von Graevenitz A. Antimicrobial susceptibility patterns of some recently established coryneform bacteria. Antimicrob Agents Chemother 1996b; 40: 2874-8.

Funke G, Pascual Ramos C, Collins MD. *Corynebacterium coyleae* sp. nov., isolated from human clinical specimens. Int J Syst Bacteriol 1997a; 47: 92-6.

Funke G, Efstratiou A, Kuklinska D, Hutson A, de Zoysa A, Engler KH, Collins MD. *Corynebacterium imitans* sp. nov., isolated from patients with suspected diphtheria. J Clin Microbiol 1997b; 35: 1978-83.

Funke G, Hutson A, Hilleringmann M, Heizmann WR, Collins MD. *Corynebacterium lipophiloflavum* sp. nov., isolated from a patient with bacterial vaginosis. FEMS Microbiol Lett 1997c; 150: 219-24.

Funke G, Lawson PA, Collins MD. *Corynebacterium mucifaciens* sp. nov., an unusual species from human clinical material. Int J Syst Bacteriol 1997d; 47: 952-7.

Funke G, Graevenitz A, Clarridge JE, Bernard KA. Clinical microbiology of coryneform bacteria. Clin Microbiol Rev 1997e; 10: 125-59.

Funke G, Renaud FN, Freney J, Riegel P. Multicenter evaluation of the updated and extended API (RAPID) Coryne database 2.0. J Clin Microbiol 1997f; 35: 3122-6.

Funke G, Osorio CR, Frei R, Riegel P, Collins MD. *Corynebacterium confunsum* sp. nov., isolated from human clinical specimens. Int J Syst Bacteriol 1998a; 48: 1291-6.

Funke G, Lawson PA, Collins MD. *Corynebacterium riegelii* sp. nov., an unusual species isolated from female patients with urinary tract infections. J Clin Microbiol 1998b; 36: 624-7.

Funke G, Lawson PA, Nolte FS, Weiss N, Collins MD. *Aureobacterium resistens* sp. nov. exhibiting vancomycin resistance and teicoplanin susceptibility. FEMS Microbiol Lett 1998c; 158: 89-93.

Funke G, Peters K, Aravena-Roman M. Evaluation of the RapID CB Plus system for identification of coryneform bacteria and *Listeria* spp. J Clin Microbiol 1998d; 36: 2439-42.

Funke G, Pagano-Niederer M, Sjöden B, Falsen E. Characteristics of *Arthrobacter cummingsii*, the most frequently encountered *Arthrobacter* species in human clinical specimens. J Clin Microbiol 1998e; 36: 1539-43.

Funke G, Bernard KA. Coryneform gram-positive rods, pp. 319-45. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, and Tenover FC (eds.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. 1999. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Funke G, Bernard KA. Coryneform gram-positive rods, pp. 472-501. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, and Tenover FC (eds.), Manual of clinical microbiology, 8th ed. 2003. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Funke G, Nietznik C. Minimal inhibitory concentrations of linezolid against clinical isolates of coryneform bacteria. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005; 24: 612-4.

Funke G, Troxler R. In vitro activity of quinupristin and dalbavancin in combination and alone against coryneform bacteria. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005; 24: 769-71.

Funke G, Bernard KA. Coryneform gram-positive rods, pp 485-514. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds) Manual of clinical microbiology. 9th ed. 2007. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Funke G, Frodl R. Comprehensive study of *Corynebacterium freneyi* strains and extended and emended description of *Corynebacterium freneyi* Renaud, Aubel, Riegel and Bollet 2001. J Clin Microbiol 2008; 46: 638-43.

Fusconi M, Conti C, De Virgilio A, De Vincentiis M. Paucisymptomatic pneumonia due to *Rothia mucilaginosa*: case report and literature review. Infez Med 2009; 17: 100-4.

García Rodríguez JA, García Sánchez JE, Muñoz Bellido JL, Nebreda Mayoral T, García Sánchez E, García García I. In vitro activity of 79 antimicrobial agents against *Corynebacterium* group D2. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 2140-3.

Garnacho J. Infección relacionada con catéteres. Conceptos y definiciones. Estándares. En: Conferencia de consenso de las infecciones por catéter. SEIMC-SEMICYUC. (eds) Drug Farma S.L. 2003; 13-18.

Gelsomino R, Vancanneyt M, Snauwaert C, Vandemeulebroecke K, Hoste B, Cogan TM, Swings J. *Corynebacterium mooreparkense*, a later heterotypic synonym of *Corynebacterium variabile*. Int J Syst Evol Microbiol 2005; 55: 1129-31.

Goldstein EJ, Citron DM, Hunt Gerardo S, Hudspeth M, Merriam CV. Activities of HMR 3004 (RU 64004) and HMR 3647 (RU 66647) compared to those of erythromycin, azithromycin, clarithromycin, roxithromycin, and eight other antimicrobial agents against unusual aerobic and anaerobic human and animal bite pathogens isolated from skin and soft tissue infections in humans. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 1127-32.

Goldstein EJ, Citron DM, Merriam CV, Warren YA, Ttrrell KL, Fernández HT. Comparative in vitro activity of ertapenem and 11 other antimicrobial agents against aerobic and anaerobic pathogens isolated from skin and soft tissue animal and human bite wound infections. J Antimicrob Chemother 2001; 48: 641-51.

Goldstein EJ, Citron DM, Merriam CV. In vitro activities of daptomycin, vancomycin, quinupristin-dalfopristin, linezolid, and five other antimicrobials against 307 gram-positive anaerobic and 31 *Corynebacterium* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 337-41.

Gómez A, Nombela C, Zapardiel J, Soriano F. An encrusted cystitis caused by *Corynebacterium urealyticum* in a dog. Aust Vet J 1995; 72: 72-3.

Gómez-Garcés JL, Oteo J, García G, Aracil B, Alós JI, Funke G. Bacteremia by *Dermabacter hominis*, a rare pathogen. J Clin Microbiol 2001; 39: 2356-7.

Gómez-Garcés JL, Alós JI, Tamayo J. *In vitro* activity of linezolid and 12 other antimicrobials against coryneform bacteria. Int J Antimicrobial Agents 2007; 29: 688-92.

Góra A, Mackiewicz B, Krawczyk P, Golec M, Skórska C, Sitkowska J, Cholewa G, Larsson L, Jarosz M, Wójcik-Fatla A, Dutkiewicz. Occupational exposure to organic dust, microorganisms, endotoxin and peptidoglycan among plants processing workers in Poland. *Ann Agric Environ Med.* 2009;16:143-50.

Goyache J, Ballesteros C, Vela AI, Collins MD, Briones V, Hutson RA, Potti J, García-Borboroglu P, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF. *Corynebacterium sphenisci* sp. nov., isolated from wild penguins. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003a; 53: 1009-12.

Goyache J, Vela AI, Collins MD, Ballesteros C, Briones V, Moreno J, Yorio P, Domínguez L, Hutson R, Fernández-Garayzábal JF. *Corynebacterium spheniscorum* sp. nov., isolated from the cloacae of wild penguins. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003b; 53: 43-6.

Granok AB, Benjamin P, Garrett LS. *Corynebacterium minutissimum* bacteremia in an immunocompetent host with cellulitis. *Clin Infect Dis.* 2002; 35: 40-2.

Grisold AJ, Roll P, Hoenigl M, Feierl G, Vicenzi-Moser R, Marth E. Isolation of *Gordonia terrae* from a patient with catheter-related bacteraemia. *J Med Microbiol* 2007; 56: 1687-8.

Gruner E, Steigerwalt AG, Hollis DG, Weyant RS, Weaver RE, Moss CW, Daneshvar M, Brenner DJ. Recognition of *Dermabacter hominis*, formerly CDC fermentative coryneform group 3 and group 5, as a potential human pathogen. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1918-22.

Gubler J, Huber-Schneider C, Gruner E, Altwegg M. An outbreak of nontoxigenic *Corynebacterium diphtheriae* infection: single bacterial clone causing invasive infection among Swiss drug users. *Clin Infect Dis* 1998; 27: 1295-8.

Hall V, Collins MD, Hutson RA, Lawson PA, Falsen E, Duerden BI. *Corynebacterium atypicum* sp. nov., from a human clinical source does not contain corynomycolic acids. Int J Syst Evol Microbiol 2003; 53: 1065-8.

Hollis DG, Weaver RE. Gram-positive organisms: a guide to identification. Special Bacteriology Section, Centers for Disease Control, Atlanta, Ga 1981.

Holthouse DJ, Power B, Kermode A, Golledge C. Non-toxigenic *Corynebacterium diphtheriae*: two cases and review of the literature. J Infect 1998; 37: 62-6.

Homero. La Ilíada. Ed. Gredos, Madrid 2000 (Trad. de Emilio Crespo, pag. 132.

Homme J, Devriese LA, Vanechoutte M, Riegel P, Butaye P, Haesebrouck F. Identification of nonlipophilic corynebacteria isolated from dairy cows with mastitis. J Clin Microbiol 1999; 37: 954-7.

Horch RE Nord D, Augustin M, Germann G, Leffler M, Dragu A. Economic aspects of surgical wound therapies. Chirurg 2008; 79: 518-25.

Iida S, Taniguchi H, Kageyama A, Yazawa K, Chibana H, Murata S, Nomura F, Kroppenstedt RM, Mikami Y. *Gordonia otitidis* sp. nov., isolated from a patient with external otitis. Int J Syst Evol Microbiol 2005; 55: 1871-6.

Jackman PJ, Pitcher DG, Pelczynska S, Borman P. Classification of corynebacteria associated with endocarditis (group JK) as *Corynebacterium jeikeium* sp. nov. Syst Appl Microbiol 1987; 9: 83-90.

Janda WN. *Corynebacterium* species and the coryneform bacteria. Part I: new and emerging species in the genus *Corynebacterium*. Clin Microbiol Newslet 1998a; 20: 41-52.

Janda WN. *Corynebacterium* species and the coryneform bacteria. Part II: current status of the CDC coryneform groups. Clin Microbiol Newslet 1998b; 20: 53-66.

Janda WN. The *Corynebacteria* revisited: new species, identification kits and antimicrobial susceptibility testing. Clin Microbiol Newslet 1999; 21: 175-82.

Jannat-Khah DP, Halsey ES, Lasker BA, Steigerwalt AG, Hinrikson HP, Brown JM. *Gordonia araii* infection of an orthopedic device and review of the literature on medical device-associated *Gordonia* infections. J Clin Microbiol 2009; 47: 499-502.

Jimenez MS, Campos-Herrero MI, García D, Luquín M, Herrera L, García MJ. *Mycobacterium canariasense* sp. nov. Int J J Syst Evol Microbiol 2004; 54: 1729-34.

Johnson A, Hulse P, Oppenheim BA. *Corynebacterium jeikeium* meningitis and transverse myelitis in a neutropenic patient. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1992; 11: 473-4.

Jorgensen JH. Need for susceptibility testing guidelines for fastidious or less-frequently isolated bacteria. Clin Microbiol 2004; 42: 493-6.

Jorgensen JH, Hindler JF. New consensus guidelines from the clinical and Laboratory Standards Institute for Antimicrobial susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. Clin Infect Dis 2007; 44: 280-6.

Kämpfer P, Lodders N, Warfolomeow I, Falsen E, Busse HJ. *Corynebacterium lubricantis* sp. nov., isolated from a coolant lubricant. Int J Syst Evol Microbiol 2009; 59: 1112-5.

Kania RE, Lamers GE, Vonk MJ, Dorpmans E, Struik J, Tran Ba Huy P, Hiemstra P, Bloemberg GV, Grote JJ. Characterization of mucosal biofilms on human adenoid tissues. *Laryngoscope* 2008; 118: 128-34.

Kaźmierczak AK, Szewczyk EM. Bacteria forming a resident flora of the skin as a potential source of opportunistic infections. *Pol J Microbiol* 2004; 53: 249-55.

Kemp M, Holtz K, Andresen K, Christensen JJ. Demonstration by PCR and DNA sequencing of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* as a cause of joint infection and isolation of the same organism from a surface swab specimen from the patient. *J Med Microbiol* 2005; 54: 689-91.

Khamis A, Raoult D, La Scola B. *rpoB* gene sequencing for identification of *Corynebacterium* species. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3925-31.

Khamis A, Raoult D, La Scola B. Comparison between *rpoB* and 16S rRNA gene sequencing for molecular identification of 168 clinical isolates of *Corynebacterium*. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1934-6.

Khodaiyan F, Razavi SH, Emam-Djomeh Z, Mousavi SM, Hejazi MA. Effect of culture conditions on canthaxanthin production by *Dietzia natronolimnaea* HS-1. *J Microbiol Biotechnol* 2007; 17: 195-201.

Kieffer P, Dukic R, Hueber M, Kieffer C, Bouhala M, Riegel P, Wilhelm JM. A young woman with granulomatous mastitis: a corynebacteria may be involved in the pathogenesis of these disease. *Rev Med Interne* 2006; 27: 550-4.

Klibanov OM, Filicko JE, DeSimone JA Jr, Tice DS. Sensoneural hearing loss associated with intrathecal vancomycin. *Ann Pharmacother* 2003; 37: 61-5.

Knox KL, Holmes AH. Nosocomial endocarditis caused by *Corynebacterium amycolatum* and other nondiphtheriae corynebacteria. *Emerg Infect Dis* 2002; 8: 97-9.

Kocazeybek B, Ozder A, Kucukoglu S, Kucukates E, Yuksel H, Olga R. Report of a case with polymicrobial endocarditis related to multiresistant strains. *Chemotherapy* 2002; 48: 316-9.

Korthals M, Ege MJ, Tebbe CC, von Mutius E, Bauer J. Application of PCR-SSCP for molecular epidemiological studies on the exposure of farm children to bacteria in environmental dust. *J Microbiol Methods* 2008; 73: 49-586.

Kumari P, Tyagi A, Marks P, Kerr KG. *Corynebacterium afermentans* subsp. *afermentans* sepsis in a neurosurgical patient. *J Infect* 1997; 35: 201-2.

Kuwabara M, Onitsuka t, Nakamura K, Shimada M, Ohtaki S, Mikami Y. Mediastinitis due to *Gordona sputi* after CABG. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 1999; 40:675-7.

Lagrou K, Verhaegen J, Janssens M, Wautters G, Verbist L. Prospective study of catalase-positive coryneform organisms in clinical specimens identification, clinical relevance and antibiotic susceptibility. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1989; 30: 7-15.

Lartigue ME, Monnet X, Le Fléche A, Grimont PAD, Benet JJ, Durrbach A, Fabre M, Nordmann P. *Corynebacterium ulcerans* in an immuno-compromised patient with diphtheria and her dog. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 999-1001.

Lau SK, Woo PC, Yuen KY. Catheter-related *Microbacterium* bacteremia identified by 16S rRNA gene sequencing. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2681-5.

Leclercq R, Brisson-Noël A, Duval J, Courvalin P. Phenotypic expression and genetic heterogeneity of lincosamide inactivation in *Staphylococcus* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 1987; 31: 1887-91.

Leclercq R, Courvalin P. Intrinsic and unusual resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics in bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1273-6.

Lee AB, Harker-Murray P, Ferrieri P, Schleiss MR, Tolar J. Bacterial meningitis from *Rothia mucilaginosa* in patients with malignancy or undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer*. 2008;50:673-6.

Lee PP, Ferguson DA Jr, Sarubbi FA. *Corynebacterium striatum*: an underappreciated community and nosocomial pathogen. *J Infect* 2005; 50: 338-43.

Lehmann KB, Neumann R. Atlas und grundriss der bakterilogie und lehrbuch der speziellen bakteriologischen diagnostik 1st ed., JF Lehmann, München, 1896.

Lentino JR. Prosthetic joint infections: bane of orthopedists, challenge for infectious disease specialists. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 1157-61.

Leonard RB, Nowowiejski DJ, Warren JJ, Finn DJ, Coyle MB. Molecular evidence of person-to-person transmission of a pigmented strain of *Corynebacterium striatum* in intensive care units. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 164-9.

Lesens O, Hansmann Y, Riegel P, Heller R, Benaisa-Djellouli M, Martinot M, Petit H, Christmann D. Bacteremia and endocarditis caused by a *Gordonia* species in a patient with a central venous catheter. *Emerg Infect Dis* 2000; 6: 382-5.

Letek M, Ordoñez E, Fernández-Natal I, Gil JA, Mateos LM. Identification of the emerging skin pathogen *Corynebacterium amycolatum* using PCR amplification of the essential divIVA gene as a target. FEMS Microbiol Lett 2006; 265: 256-63.

Li A, Lal S. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* keratitis and conjunctivitis: a case report. Clin Experiment Ophthalmol 2000; 28: 60-1.

Lindenmann K, von Graevenitz A, Funke G. Evaluation of the Biolog system for the identification of asporogenous, aerobic Gram-positive rods. Med Microbiol Lett 1995; 4: 287-96.

Liñares J, Sitges-Serra A, Garau J, Pérez JL, Martín R. Pathogenesis of catheter sepsis : A prospective study using quantitative and semiquantitative cultures of catheter hub and segments. J Clin Microbiol 1985; 21: 357-60.

Liñares J, Bouza E. Procedimientos de diagnóstico microbiológico realizados sobre catéteres retirados. En: Conferencia de consenso de las infecciones por catéter. SEIMC-SEMICYUC. (eds) Drug Farma S.L. 2003; 57-63.

Lipsky BA, Goldberger AC, Tompkins LS, Plorde JJ. Infections caused by nondiphtheria corynebacteria. Rev Infect Dis 1982; 4: 1220-35.

Lolekha R, Supradish P, Kirawittaya T, Srimaharaja S, Chotpitayasunondh T. Subacute infective endocarditis caused by *Corynebacterium diphtheriae*: a case report. J Med Assoc Thai 2003; 86:S696-700.

Macedo Filho Et, Lago A, Duarte K, Liang SJ, Lima AL, Freitas D. Superficial corneal foreign body: laboratory and epidemiologic aspects. Arq Bras Oftalmol 2005; 68: 821-3.

Mages IS, Frodl R, Bernard KA, Funke G. Identities of *Arthrobacter* spp. and *Arthrobacter*-like bacteria encountered in human clinical specimens. J Clin Microbiol 2008; 46: 2980-6.

Maki DG, Weise CE, Sarafin HW. A semiquantitative culture method for identifying intravenous catheter related infection. N England J Med 1977; 96: 1305-9.

Marti J, Anton E, Idoate A. Implantable cardioverter-defibrillator due to *Corynebacterium xerosis*. Int J Cardiol 2008; 128:1-2.

Martínez-Martínez L, Suárez AI, Ortega MC, Perea EJ. Comparative in vitro activities of new quinolones against coryneform bacteria. Antimicrob agents Chemother 1994; 38: 1439-41.

Martínez-Martínez L, Ortega MC, Suárez AI. Comparison of E-test with broth microdilution and disk diffusion for susceptibility testing of coryneform bacteria. J Clin Microbiol 1995; 33: 1319-21.

Martínez-Martínez L. Clinical significance of newly recognized coryneform bacteria. Rev Med Microbiol 1998; 9: 55-68.

Martínez-Martínez L, Pascual A, Suárez AI, Perea EJ. In vitro activities of ketolide HMR 3647, macrolides, and clindamycin against coryneform bacteria. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 3290-2.

Martino P, Micozzi A, Venditti M, Gentile G, Girmenia C, Raccach R, Santilli S, Alessandri N, Mandelli F. Catheter-related right-sided endocarditis in bone marrow transplant recipients. Rev Infect Dis 1990; 12: 250-7.

Marty N, Agueda L, Lapchine L, Clave D, Henry-Ferry S, Chabanon G. Adherence and hemagglutination of *Corynebacterium* group D2. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1991; 10: 20-4.

Mendizábal S, Estornell F, Zamora I, Sabater A, Ibarra FG, Simon J. Renal transplantation in children with severe bladder dysfunction. J Urol 2005; 173: 226-9.

Melero-Bascones M, Muñoz P, Rodríguez-Créixems M, Bouza E. *Corynebacterium striatum*: an undescribed agent of pacemaker-related endocarditis. Clin Infect Dis 1996; 22: 576-7.

Meria P, Margaryan M, Haddad E, Dore B, Lottmann HB. Encrusted cystitis and pyelitis in children: an unusual condition with potentially severe consequences. Urology 2004; 64: 569-73.

Michels F, Colaert J, Gheysen F, Scheerlinck T. Late prosthetic joint infection due to *Rothia mucilaginosa*. Acta Orthop Belg. 2007; 73:263-7.

Minkin R, Shapiro JM. *Corynebacterium afermentans* lung abscess and empyema in a patient with human immunodeficiency virus infection. South Med J 2004; 97: 395-7.

Mishra B, Dignan RJ, Hughes CF, Hendel N. *Corynebacterium diphtheriae* endocarditis-surgery for some but not all!. Asian Cardiovasc Thorac Ann 2005; 13: 119-26.

Mookadan F, Cikes M, Baddour LM, Tleyjeh IM, Mookadan M. *Corynebacterium jeikeium* endocarditis: a systematic overview spanning for decades. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006; 25: 349-53.

Moore LVH, Moore Wec, Cato EP, Smibert RM, Burmeister JA, Best AM. Bacteriology of human gingivitis. J Dent Res 1987; 6: 989-95.

Morinaka S, Kurokawa M, Nukina M, Nakamura H. Unusual *Corynebacterium mucifaciens* isolated from ear and nasal specimens. Otolaryngol Head Neck Surg 2006; 135: 392-6.

Morley AM, Tuft SJ. *Rothia dentocariosa* isolated from a corneal ulcer. Cornea. 2006; 25: 1128-9.

Morris A, Guild I. Endocarditis due to *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*: five case reports, review, and antibiotic susceptibilities of nine strains. Rev Infect Dis 1991; 13: 887-92.

Morris SK, Nag S, Suh KN, A Evans G. Recurrent chronic ambulatory peritoneal dialysis-associated infection due to *Rothia dentocariosa*. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2004;15:171-3.

Mungelluzzi C, Caprilli F. *Corynebacterium mycetoides*, (Castellani), Ortolí and Capocaccia, 1956. Etiologic agent of tropical ulcer. Arch Ital Sci Med Trop Parassitol 1965; 46: 301-4.

Murray BE, Karchmer AW, Moellering. Diphtheroid prosthetic valve endocarditis. Am J Med 1980; 69: 838-48.

Neubauer M, Sourek J, Ryc M, Bohacek J, Mara M, Mnukova J. *Corynebacterium accolens* sp. nov., a gram-positive rod exhibiting satellitism, from clinical material. Syst Appl Microbiol 1991; 14: 46-51.

Nieto E, Aguado JM, Pulido F, Soriano F. Detection of *Corynebacterium diphtheriae* in throat swab specimens from spanish patients infected with human immunodeficiency virus. Clin Infect Dis 1995; 21: 1531-2.

Nieto E, Zapardiel J, Soriano F. Enviromental contamination by *Corynebacterium urealyticum* in a teaching hospital. J Hosp Infect 1996; 32: 78-9.

Notario R, Borda N, Gambandé T. Prosthetic valve endocarditis caused by *Corynebacterium urealyticum*. Medicina (B Aires). 1996; 56: 57-8.

Oliveira GC, Solari HP, Ciola FB, Lima AL, Campos MS. Corneal infiltrates after excimer laser photorefractive keratectomy and LASIK. J Refract Surg 2006; 22: 159-65.

Ordóñez-Palau S, Boquet D, Gil-García M, Pardina-Solano M. Chronic osteomyelitis of the metatarsal sesamoid due to *Corynebacterium jeikeium* in a patient with rheumatoid arthritis. Joint bone Spine 2007; 74: 516-7.

Oteo J, Aracil B, Alós JI, Gómez-Garcés JL. Significant bacteriemias by *Corynebacterium amycolatum*: an emergent pathogen. Enferm Infecc Microbiol Clin 2001; 19: 103-6.

Otsuka Y, Kawamura Y, Koyama T, Iihara H, Ohkusu K, Ezaki T. *Corynebacterium resistens* sp. nov., a new multidrug-resistant coryneform bacterium isolated from human infections. J Clin Microbiol 2005; 43: 3713-7.

Otsuka Y, Ohkusu K, Kawamura Y, Baba S, Ezaki T, Kimura S. Emergence of multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* as a nosocomial pathogen in long-term hospitalized patients with underlying diseases. Diagn Microbiol Infect Dis 2006; 54: 109-14.

Pascual C, Lawson PA, Farrow E, Gimenez MN, Collins MD. Phylogenetic analysis of the genus *Corynebacterium* based on the 16S rRNA gene sequences. Int J Syst Bacteriol 1995; 45: 724-8.

Pascual C, Foster G, Alvarez N, Collins MD. *Corynebacterium phocae* sp. nov., isolated from the common seal (*Phoca vitulina*). Int J Syst Bacteriol 1998; 48: 601-4.

Patey O, Bimet F, Riegel P, Halioua B, Emond JP, Estrangin E, Dellion S, Alonso JM, Kiredjian M, Dublanchet A, Lafaix C. Clinical and molecular study of *Corynebacterium diphtheriae* systemic infections in France. Coryne Study Group. J Clin Microbiol 1997; 35: 441-5.

Paviour S, MUSAAD S, Roberts S, Taylor G, Shore K, Lang S, Holland D. *Corynebacterium* species isolated from patients with mastitis. Clin Infect Dis 2002; 35: 1434-40.

Peel MM, Palmer GG, Stacpoole AM, Kerr TG. Human lymphadenitis due to *Corynebacterium pseudotuberculosis*: report of ten cases from Australia and review. Clin Infect Dis 1997; 24: 185-91.

Peiris V, Fraser S, Knwles C, Norris S, Bennetrt C. Isolation of *Corynebacterium striatum* from tree hospital patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13: 36-8.

Pennie RA, Malik AS, Wilcox L. Misidentification of toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* as a *Corynebacterium* species with low virulence in a child with endocarditis. J Clin Microbiol. 1996; 34: 1275-6.

Pessanha B, Farb A, Lwin T, Lloyd B, Virmani R. Infectious endocarditis due to *Corynebacterium xerosis*. Cardiovasc Pathol 2003; 12: 98-101.

Philippon A, Bimet F. In vitro susceptibility of *Corynebacterium* group D2 and *Corynebacterium jeikeium* to twelve antibiotics. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990; 9: 892-5.

Pitcher DG, Soto A, Soriano F, Valero-Guillen P. Classification of coryneform bacteria associated with human urinary tract infection (group D2) as *Corynebacterium urealyticum* sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1992; 42: 178-81.

Poetker DM, Lindstrom DR, Edmiston CE, Krepel CJ, Link TR, Kerschner JE. Microbiology of middle ear effusions from 292 patients undergoing tympanostomy tube placement for middle ear disease. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2005; 69: 799-804.

Pople IK, Bayston R, Hayward RD. Infection of cerebrospinal fluid shunts in infants: a study of etiological factors. *J Neurosurg* 1992; 77: 29-36.

Pronovost P, Needham D, Berenholtz S, Sinopoli D, Chu H, Cosgrove S, Sexton B, Hyzy R, Welsh R, Roth G, Bander J, Kepros J, Goeschel C. An intervention to decrease catheter-related bloodstream infections in the ICU. *N Engl J Med.* 2006 28; 355: 2725-32.

Pubill Sucarrat M, Martínez-Costa X, Sauca Subías G, Capdevila Morell JA. *Corynebacterium macginleyi* as an exceptional cause of endocarditis: a case report. *An Med Interna* 2003; 20: 654-5.

Puskar M, Lemons C, Papich, Vaden SL, Adam Birkenheuer. Antibiotic-resistant *Corynebacterium jeikeium* urinary tract infection in a cat. *J Am Anim Hosp Assoc* 2007; 43: 61-4.

Quinn AG, Comaish JS, Pedler SJ. Septic arthritis and endocarditis due to group G-2 coryneform organism. *Lancet* 1991; 338: 62-3.

Radtke A, Bergh K, Øien CM, Bevanger LS. Peritoneal dialysis-associated peritonitis caused by *Dermabacter hominis*. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3420-1.

Renaud FN, Grégory A, Barreau C, Aubel D, Riegel P, Freney J. Identification of *Turicella otitidis* isolated from a patient with otorrhea associated with surgery: differentiation from *Corynebacterium afermentans* and *Corynebacterium auris*. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2625-7.

Renaud FN, Dutaur M, Daoud S, Aubel D, Riegel P, Monget D, Freney J. Differentiation of *Corynebacterium amycolatum*, *C. minutissimum* and *C. striatum* by carbon substrate assimilation tests. J Clin Microbiol 1998; 36: 3698-702.

Renaud FN, Aubel D, Riegel P, Meugnier H, Bollet C. *Corynebacterium freneyi* sp. nov., alpha-glucosidasa-positive strains related to *Corynebacterium xerosis*. Int J Syst Evol Microbiol 2001; 51: 1723-8.

Renaud FN, Le Coustumier A, Wilhem N, Aubel D, Riegel P, Bollet C, Freney J. *Corynebacterium hansenii* sp. nov., an α -glucosidase-negative bacterium related to *Corynebacterium xerosis*. Int J Syst Evol Microbiol 2007; 57: 1113-6.

Rennie RP, Brosnikoff C, Turnbull L, Reller LB, Mirrett S, Janda V, Ristow K, Krilcich A. Multicenter evaluation of the Vitek 2 anaerobe and *Corynebacterium* identification card. J Clin Microbiol 2008; 46: 2646-51.

Renom F, Garau M, Rubí M, Ramis F, Galmés A, Soriano JB. Nosocomial outbreak of *Corynebacterium striatum* infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease. J Clin Microbiol 2007; 45: 2064-7.

Riegel P, Briel D, Prévost G, Jehl F, Monteil H, Mink R. Taxonomic study of *Corynebacterium* group ANF-1 strains: proposal of *Corynebacterium afermentans* sp. nov., containing the subspecies *C. afermentans* subsp. *afermentans* subsp. nov., and *C. afermentans* subsp. *lipophilum* subsp. nov. Int J Syst Bacteriol 1993a; 43: 287-92.

Riegel P, Briel D, Prévost G, Jehl F, Monteil H. Proposal of *Corynebacterium propinquum* sp. nov., for *Corynebacterium* group ANF-3 strains. FEMS Microbiol Lett 1993b; 113: 229-34.

Riegel P, Briel D, Prévost G, Jehl F, Monteil H. Genomic diversity among *Corynebacterium jeikeium* strains and comparison with biochemical characteristics. J Clin Microbiol 1994; 32: 1860-5.

Riegel P, Ruimy R, Briel D, Prévost G, Jehl F, Bidet F, Christen R, Monteil H. *Corynebacterium argentoratense* sp. nov., from human throat. Int J Syst Bacteriol 1995a; 45: 533-7.

Riegel P, Ruimy R, Briel D, Prévost G, Jehl F, Bimet F, Christen R, Monteil H. *Corynebacterium seminale* sp. nov., a new species associated with genital tract infections in male patients. J Clin Microbiol 1995b; 33: 2244-9.

Riegel P, Ruimy R, Briel D, Prévost G, Jehl F, Christen R, Monteil H. Genomic diversity and phylogenetic relationships among lipid-requiring diphtheroids from humans and characterization of *Corynebacterium macginleyi* sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1995c; 45: 128-33.

Riegel P, Ruimy R, de Briel D, Prévost G, Jehl F, Christen R, Monteil H. Taxonomy of *Corynebacterium diphtheriae* and related taxa, with recognition of *Corynebacterium ulcerans* sp. nov., nom. rev. FEMS Microbiol Lett 1995d; 126: 271-6.

Riegel P, Ruimy R, Christen R, Monteil H. Species identifies and antimicrobial susceptibilities of corynebacteria isolated from various clinical sources. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996a; 15: 657-62.

Riegel P, Ruimy R, de Briel D, Eichler F, Bergerat JP, Christen R, Monteil H. Bacteremia due to *Gordona sputi* in an immunocompromised patient. J Clin Microbiol 1996b; 34: 2045-7.

Riegel P, Heller R, Prévost G, Jehl F, Monteil H. *Corynebacterium durum* sp. nov., from human clinical specimens. *Int J Syst Bacteriol* 1997a; 47: 1107-11.

Riegel P, Ruimy R, Renaud FNR, Freney J, Prévost G, Jehl F, Christen R, Monteil H. *Corynebacterium singulare* sp. nov., a new species for urea-positive strains related to *Corynebacterium minutissimum*. *Int J Syst Bacteriol* 1997b; 47: 1092-6.

Riegel P, Liégeois P, Chenard MP, Mathelin C, Monteil H. Isolation of *Corynebacterium kroppenstedtii* from a breast abscess. *Int J Med Microbiol* 2004; 294: 413-6.

Riegel P, Creti R, Mattei R, Nieri A, Hunolstein C. Isolation of *Corynebacterium tuscaniae* sp. nov., from blood cultures of a patient with endocarditis. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 307-12.

Ritzau J, Hoffman RM, Tzamaloukas AH. Effect of preventing *Staphylococcus aureus* carriage on rates of peritoneal catheter-related staphylococcal infections. Literature synthesis. *Perit Dial Int* 2001; 21: 471-9.

Rivero M, Quereda C, Martín-Dávila P, Moya JL, Navas E, Moreno S. Endocarditis por *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21: 117-9.

Roberts MC, Leonard RB, Briselden A, Schoenknecht FD, Coyle MB. Characterization of antibiotic resistant *Corynebacterium striatum* strains. *J Antimicrob Chemother* 1992; 49: 1714-9.

Robins E, Haile-Selassie T. *Corynebacterium xerosis* sepsis in a pediatric patient with sickle cell disease (a case report). *Clin Pediatr (Phila)*. 2001; 40: 181-2.

Rodicio MR, Mendoza MC. Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22: 238-45.

Rolston KV, Frisbee-Hume S, LeBlanc B, Streeter H, Ho DH. In vitro antimicrobial activity of moxifloxacin compared to other quinolones against recent clinical bacterial isolates from hospitalized and community-based cancer patients. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003; 47: 441-9.

Rosato AE, Lee BS, Nash KA. Inducible macrolide resistance in *Corynebacterium jeikeium*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 1982-9.

Ross MJ, Sakoulas G, Manning WJ, Cohn WE, Lisbon A. *Corynebacterium jeikeium* native valve endocarditis following femoral access for coronary angiography. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 120-1.

Roux V, Drancourt M, Stein A, Riegel P, Raoult D, La Scola B. *Corynebacterium* species isolated from bone and joint infections identified by 16S rRNA gene sequence analysis. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2231-3.

Rozdzinski E, Kern W, Schmeiser T, Kurrle E. *Corynebacterium jeikeium* bacteremia at a tertiary care center. *Infection* 1991; 19: 201-4.

Ruimy R, Riegel P, Boiron P, Montiel H, Christen R. Phylogeny of the genus *Corynebacterium* deduced from analysis of small-subunit ribosomal DNA sequences. *Int J Syst Bacteriol* 1995; 45: 740-6.

Rupp ME, Stiles KG, Tarantolo S, Goering RV. Central venous catheter-related *Corynebacterium minutissimum* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1998; 19: 786-9.

Sadhu A, Loewenstein R, Klotz SA. *Rothia dentocariosa* endocarditis complicated by multiple cerebellar hemorrhages. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 53: 239-40.

Salas C, Calvo J, Martínez-Martínez L. Activity of tigecycline against coryneform bacteria of clinical interest and *Listeria monocytogenes*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 1503-5.

Sánchez-Hernández J, Mora Peris B, Yagüe Guirao G, Gutierrez Zufiaurre N, Muñoz Bellido JL, Segovia Hernández M, García Rodríguez JA. In vitro activity of newer antibiotics against *Corynebacterium jeikeium*, *Corynebacterium amycolatum* and *Corynebacterium urealyticum*. *I J Antimicrob Agents* 2003; 22: 492-6.

Santos-Juanes J, Galache C, Martínez-Cordero A, Curto JR, Carrasco MP, Ribas A, Sánchez del Río J. Cutaneous granulomas caused by *Corynebacterium minutissimum* in an HIV-infected man. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002; 16: 643-5.

Schiffl H, Mücke C, Lang SM. Exit-site infections by non-diphtheria corynebacteria in CAPD. *Perit Dial Intern* 2004; 24: 454-9.

Scholle D. A spontaneous joint infection with *Corynebacterium striatum*. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 656-8.

Schuchat A, Swaminathan B, Broome CV. Epidemiology of human listeriosis. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4: 169-83.

Seppälä H, Nissinen Q. Yu, Huovinen P. Three different phenotypes of erythromycin resistance *Streptococcus pyogenes* in Finland. *J Antimicrob Chemother* 1993; 32: 885-91.

Sewell DL, Coyle MB, Funke G. Prosthetic valve endocarditis caused by *Corynebacterium afermentans* subsp. *lipophilum* (CDC coryneform group ANF-1). J Clin Microbiol 1995; 33: 759-61.

Shah M, Murillo JL. Successful treatment of *Corynebacterium striatum* endocarditis with daptomycin plus rifampin. Ann Pharmacother 2005; 39: 1741-4.

Shukla SK, Bernard KA, Harney M, Frank DN, Reed KD. *Corynebacterium nigricans* sp. nov., proposed name for a black-pigmented *Corynebacterium* species recovered from the human female urogenital tract. J Clin Microbiol 2003; 41: 4353-8.

Sierra JM, Martinez-Martinez L, Vázquez F, Giralt E, Vila J. Relationship between mutations in the *gyrA* gene and quinolone resistance in clinical isolates of *Corynebacterium striatum* and *Corynebacterium amycolatum*. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 1714-9.

Simonet M, DE Briel D, Boucot I, Minck R, Veron M. Coryneform bacteria isolated from middle ear fluid. J Clin Microbiol 1993; 31: 1667-8.

Sitges-Serra A, Liñares J, Pérez JL, Jaurrieta E, Lorente L. A randomized trial on the effect of tubing changes on hub contamination and catheter sepsis during parenteral nutrition. JPEN 1985; 9:322-5.

Sjöden B, Funke G, Izquierdo A, Akervall E, Collins MD. Descripción of some coryneform bacteria isolated from human clinical specimens as *Corynebacterium falsenii* sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1998; 48: 69-74.

Skerman VDB, McGowan V, Sneath PHA. Approved list of bacterial names. Int J Syst Bacteriol 1980; 30: 225-420.

Soriano F, Ponte C, Santamaría M, Aguado JM, Wilhelmi I, Vela R, Cifuentes-Delatte L. *Corynebacterium* group D2 as a cause of alkaline-encrusted cystitis: report of four cases and characterization of the organisms. J Clin Microbiol 1985; 21: 788-92.

Soriano F, Ponte C, Santamaría M, Castilla C, Fernández-Roblas. In vitro and in vivo study of stone formation by *Corynebacterium* group D2 (*Corynebacterium urealyticum*). J Clin Microbiol 1986; 23: 691-4.

Soriano F. Emergence of urea-splitting multi-resistant coryneform bacteria (*Corynebacterium* group D2) as pathogens. Eur J Clin Microbiol 1987; 6: 601-2.

Soriano F, Ponte C, Santamaría M, Torres A, Fernández-Roblas. Susceptibility of urinary isolates of *Corynebacterium* group D2 to fifteen antimicrobials and acetohydroxamic acid. J Antimicrob Chemother 1987; 20: 349-55.

Soriano F, Fernández-Roblas R. Infections caused by antibiotic-resistant *Corynebacterium* group D2. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1988; 7: 337-41.

Soriano F, Rodríguez-Tudela JL, Fernández-Roblas R, Aguado JM, Santamaría M. Skin colonization by *Corynebacterium* group D2 and JK in hospitalized patients. J Clin Microbiol 1988; 26: 1878-80.

Soriano F, Fernández-Roblas R, Zapardiel J, Rodríguez-Tudela JL, Avilés P, Romero M. Increasing incidence of *Corynebacterium* group D2 strains resistant to norfloxacin and ciprofloxacin. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1989; 8: 1117-8.

Soriano F, Aguado JM, Ponte C, Fernández-Roblas R, Rodríguez-Tudela JL. Urinary tract infection caused by *Corynebacterium* group D2: report of 82 cases and review. Rev Infect Dis 1990; 12: 1019-34.

Soriano F, Ponte C. A case of urinary tract infection caused by *Corynebacterium urealyticum* and coryneform group F1. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1992; 11: 626-8.

Soriano F, Ponte C, Ruiz R, Zapardiel J. Non-urinary tract infections caused by multiply antibiotic-resistant *Corynebacterium urealyticum*. Clin Infect Dis 1993a; 17: 890-1.

Soriano F, Ponte C, Galiano MJ. Adherence of *Corynebacterium urealyticum* (CDC group D2) and *Corynebacterium jeikeium* to intravascular and urinary catheters. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1993b; 12: 453-6.

Soriano F, Zapardiel J, Ponte C. Use of selective media for isolating *Corynebacterium urealyticum* from urine specimens. J Clin Microbiol 1994; 32: 2630-1.

Soriano F, Zapardiel J, Nieto E. Antimicrobial susceptibilities of *Corynebacterium* species and other non-spore-forming gram-positive bacilli to 18 antimicrobial agents. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 208-14.

Soriano F, Fernández-Roblas R, Calvo R, García-Calvo G. In vitro susceptibilities of aerobic and facultative non-sporulated gram-positive bacilli to HMR 3647 (RU 66647) and 14 other antimicrobials. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42:1028-33.

Soriano F. Selección de bacterias resistentes a antibióticos: factores microbiológicos y farmacológicos. Med Clin (Barc) 2001; 117: 632-6.

Soriano F, Tauch A. Microbiological and clinical features of *Corynebacterium urealyticum*: urinary tract stones and genomics as the Rosetta stone. Clin Microbiol Infect 2008; 14: 632-43.

Soriano F. *Corynebacterium urealyticum*: de la clínica a la secuenciación completa del genoma. Enferm Infecc Microbiol Clin 2009; 27: 5-6.

Soriano F, Huelves L, Naves P, Rodríguez-Cerrato V, Del Prado G, Ruiz V, Ponte C. In vitro activity of ciprofloxacin, moxifloxacin, vancomycin and erythromycin against planktonic and biofilm forms of *Corynebacterium urealyticum*. J Antimicrob Chemother 2009; 63: 353-6.

Soto A, Zapardiel J, Soriano F. Evaluation of API Coryne system for identifying coryneform bacteria. J Clin Pathol 1994; 47: 756-9.

Spach DH, Opp DR, Gabre-Kidan T. Bacteremia due to *Corynebacterium jeikeium* in a patient with AIDS. Rev Infect Dis 1991; 13: 342-3.

Stackebrandt E, Goebel BM. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequences analysis in the present species definition in bacteriology. Int J Syst Bacteriol 1994; 44: 846-9.

Stackebrandt E, Rainey FA, Ward-Rainey NL. Proposal for a new hierachic classification system, *Actinobacteria* clasis nov. Int J Syst Bacteriol 1997; 47: 479-91.

Stackebrandt E, Ebers J. Taxonomic parameters revisited: tarnished gold standards. Microbiol Today 2005; 33: 152-5.

Steel Moore L, Schneider B, Holloway WJ. Minimal inhibitory concentrations and minimal bactericidal concentrations of quinupristin/dalfopristin against clinical isolates of

Corynebacterium jeikeium and *Listeria monocytogenes*. J Antimicrob Chemother 1997; 39: 67-8.

Superti SV, Martins Dde S, Caierão J, Soares F, Prochnow T, Cantarelli VV, Zavascki AP. *Corynebacterium striatum* infecting a malignant cutaneous lesion: the emergence of an opportunistic pathogen. Rev Inst Med TROP Sao Paulo 2009; 51: 115-6.

Szeto CC, Chow KM, Chung KY, Kwan BC, Leung CB, Li PK. The clinical course of peritoneal dialysis-related peritonitis caused by *Corynebacterium* species. Nephrol Dial Transplant 2005; 20: 2793-6.

Szabo S, Lieberman JP, Lue YA. Unusual pathogens in narcotic-associated endocarditis. Rev infect dis 1990; 12: 412-5.

Taguchi M, Nishikawa S, Matsuoka H, Narita R, Rabe S, Funkuda K, Miyamoto H, Taniguchi H, Otsuki M. Pancreatic abscess caused by *Corynebacterium coyleae* mimicking malignant neoplasm. Pancreas 2006; 33: 425-9.

Takeuchi M, Hatano K. Proposal of six new species in the genus *Microbacterium* and transfer of *Flavobacterium marinotypicum* ZoBell and Upham to the genus *Microbacterium* as *Microbacterium maritypicum* comb. nov. Int J Syst Bacteriol 1998; 48: 973-82.

Takeuchi M, Sakane T, Nihira T, Yamada Y, Imai K. *Corynebacterium terpenotabidum* sp. nov., a bacterium capable of degrading squalene. Int J Syst Bacteriol 1999; 49: 223-9.

Tang YW, von Graevenitz A, Waddington MG, Hopkins MK, Smith DH, Li H, Kolbert CP, Montgomery SO, Persing DH. Identification of corineform bacterial isolates by ribosomal DNA sequence analysis. J Clin Microbiol 2000; 38: 1676-8.

Tanner MA, Shoskes D, Shahed A, Pace NR. Prevalence of corynebacterial 16S rRNA sequences with bacterial and “nonbacterial” prostatitis. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1863-70.

Tarr PE, Stock F, Cooke RH, Fedorko DP, Lucey DR. Multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* pneumonia in a heart transplant recipient. *Transpl Infect Dis* 2003; 5: 53-8.

Tauch A, Krieft S, Puhler A, Kalinowski J. The *tetAB* genes of the *Corynebacterium striatum* R-plasmid pTP10 encode an ABC transporter and confer tetracycline, oxytetracycline and oxacillin resistance in *Corynebacterium glutamicum*. *FEMS Microbiol Lett* 1999; 173: 203-9.

Tauch A, Kaiser O, Hain T, Goesmann A, Weisshaar B, Albersmeier A, Beket T, Bischoff N, Brune I, Chakraborty T, Kalinowski J, Meyer F, Rupp O, Schneider S, Viehovever P, Pühler A. Complete genome sequence and analysis of the multiresistant nosocomial pathogen *Corynebacterium jeikeium* K411, a lipid-requiring bacterium of the human skin flora. *J Bacteriol* 2005; 187: 4671-82.

Tauch A, Trost E, Tilker A, Ludewig U, Schneider S, Goesmann A, Arnold W, Bekel T, Brinkrolf K, Brune I, Götter S, Kalinowski J, Kamp PB, Lobo FP, Viehovever P, Weisshaar B, Soriano F, Dröge M, Pühler A. The lifestyle of *Corynebacterium urealyticum* derived from its complete genome sequence established by pyrosequencing. *J Biotechnol* 2008a; 136: 11-21.

Tauch A, Schneider J, Szczepanowski R, Tilker A, Viehovever P, Gartemann KH, Arnold W, Blom J, Brinkrolf K, Brune I, Götter S, Weisshaar B, Goesmann A, Dröge M, Pühler A. Ultrafast pyrosequencing of *Corynebacterium kroppenstedtii* DSM44385 revealed insights into the physiology of a lipophilic corynebacterium that lacks mycolic acids. *J Biotechnol* 2008b; 136(1-2): 22-30.

Taylor D, Daulby a, Grimshaw S, James G, Mercer J, Vaziri S. Characterization of the microflora of the human axilla. *Int J Cosmet Sci* 2003; 25: 137-45.

Taylor GB, Paviour SD, Musaad S, Jones WO, Holland DJ. A clinicopathological review of 34 cases of inflammatory breast disease showing an association between corynebacteria infection and granulomatous mastitis. *Pathology*. 2003; 35: 109-19.

Teixidó J, Arias N, Tarrats L, Romero R. Patrón microbiológico de la infección del catéter de diálisis peritoneal: ¿aumento de corynebacterium sp.? *Nefrología* 2007; 27: 350-8.

Telander B, Lerner R, Palmblad J, Ringertz O. *Corynebacterium* group JK in a hematological ward: infections, colonization and environmental contamination. *Scand J Infect Dis* 1988; 20: 55-61.

Tleyjeh IM, Qutub MO, Bakleh M, Sohail MR, Virk A. *Corynebacterium jeikeium* prosthetic joint infection: case report and literature review. *Scand J Infect Dis* 2005; 37: 151-3.

Troxler R, Funke G, von Graevenitz, Stock I. Natural antibiotic susceptibility of recently established coryneform bacteris. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 315-23.

Trüper HG, De´Clari L. Taxonomic note: necessary correction of specific epithets formed as sustantives (nouns) "in apposition". *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47: 908-9.

Tumbarello M, Tacconelli E, Del Forno A, Caponera S, Cauda R. *Corynebacterium striatum* bacteremia in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis*. 1994; 18: 1007-8.

Turett GS, Fazal BA, Johnston BE, Telzak EE. Liver abscess due to *Corynebacterium jeikeium* in a patient with AIDS. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 514-5.

Türks S, Korrovits P, Punab M, Mändar R. Coryneform bacteria in semen of chronic prostatitis patients. *Int J Androl* 2007; 30: 123-8.

Twardowski ZJ, Prowant BF. Exit-site healing post catheter implantation. *Peritoneal Dialysis International* 1996; 16: 51-68.

Ubaldi M, D'Annibale ML, Medori MC, Crotti D. Coryneform bacteria: their clinical significance and resistance patterns during a three-year study. *Infez Med* 2004; 12: 126-31.

Vaccher S, Cordiali R, Osimani P, Manso E, de Benedictis FM. Bacteremia caused by *Rothia mucilaginosa* in a patient with Shwachman-Diamond syndrome. *Infection*. 2007; 35:209-10.

Valdés-Stauber N, Scherer S, Seiler H. Identification of yeasts and coryneform bacteria from the surface microflora of brick cheeses. *Int J Food Microbiol* 1997; 34: 115-29.

Van Bosterhaut B, Cuvelier R, Serruys E, Pouthier F, Wauters G. Three cases of opportunistic infection caused by propionic acid producing *Corynebacterium minutissimum*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; 11: 628-31.

Van Bosterhaut B, Boucquey P, Janssens M, Wauters G, Delmée M. Chronic osteomyelitis due to *Actinomyces neuui* subspecies *neuui* and *Dermabacter hominis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21: 486-7.

Van den Velde S, Lagrou K, Desmet K, Wauters G, Verhaegen J. Species identification of corynebacteria by cellular fatty acid analysis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; 54: 99-104.

Van der Heijden IM, Wilbrink B, Vije AE, Schouls LM, Breedveld FC, Tak PP. Detection of bacterial DNA in serial synovial samples obtained during antibiotic treatment from patients with septic arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 2198-203.

Van der Lelie H, Leverstein-Van Hall M, Mertens M, van Zaanen HC, van Oers RH, Thomas BL, von dem Borne AE, Kuijper EJ. *Corynebacterium* CDC group JK (*Corynebacterium jeikeium*) sepsis in haematological patients: a report of three cases and a systematic literature review. *Scand J Infect Dis* 1995; 27: 581-4.

Vandamme P, Pot B, Gillis M, de Vos P, Kersters K, Swings J. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol Rev* 1996; 60: 407-38.

Vandercam B, Jeumont S, Cornu O, Yombi JC, Lecouvet F, Lefèvre P, Irenge LM, Gala JL. Amplification-based DNA analysis in the diagnosis of prosthetic joint infection. *J Mol Diagn* 2008; 10: 537-43.

Vaneechoutte M, Riegel P, de Briel D, Montiel H, Verschraegen G, De Rouck A, Claeys G. Evaluation of the applicability of amplified rDNA-restriction analysis (ARDRA) to identification of species of the genus *Corynebacterium*. *Res Microbiol* 1995; 146: 633-41.

Vaneechoutte M, De Bleser D, Claeys G, Verschraegen G, De Baere T, Hommez J, Devriese LA, Riegel P. Cardioverter-lead electrode infection due to *Corynebacterium amycolatum*. *Clin Infect Dis* 1998; 27: 1553-4.

Vela AI, Mateos A, Collins MD, Briones V, Hutson RA, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF. *Corynebacterium suicordis* sp. nov., from pigs. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003; 53: 2027-31.

Vela AI, García E, Fernández A, Domínguez L, Fernández-Garayzábal JF. Isolation of *Corynebacterium xerosis* from animal clinical specimens. J Clin Microbiol 2006; 44: 2242-3.

Verdaguer R, Tubau F, Vázquez Z, Lucena J. Infección del tracto urinario por *Corynebacterium riegelii*. Enferm Infecc Microbiol Clin 2008; 26: 669-70.

Verma P, Brown JM, Núñez VH, Morey RE, Steigerwalt AG, Pellegrini GJ, Harold A Kessler. Native valve endocarditis due to *Gordonia polyisoprenivorans*: case report and review of literature of bloodstream infections caused by Gordonia species. J Clin Microbiol 2006; 44: 1905-8.

Voisin S, Deruaz D, Freney J, Renaud FN. Differentiation of *C. amycolatum*, *C. minutissimum*, *C. striatum* and related species by pyrolysis-gas-liquid-chromatography with atomic emission detection. Res Microbiol 2002; 153: 307-11.

Von Graevenitz A, Frommelt L, Pünter-Streit V, Funke G. Diversity of coryneforms found in infections following prothetic joint insertion and open fractures. Infection 1998; 26: 36-8.

Wattiau P, Janssens M, Wauters G. *Corynebacterium simulans* sp. nov., a non-lipophilic, fermentative *Corynebacterium*. Int J Syst Evol Microbiol 2001; 42: 372-4.

Watts JL, Rossbach S. Susceptibilities of *Corynebacterium bovis* and *Corynebacterium amycolatum* isolates from bovine mammary glands to 15 antimicrobial agents. Antimicrob AgentsChemother 2000; 44: 3476-7.

Wauters G, van Bosterhaut B, Janssens M, Verhaegen J. Identification of *Corynebacterium amycolatum* and other nonlipophilic fermentative corynebacteria of human origin. J Clin Microbiol 1998; 36: 1430-2.

Wauters G, Avesani V, Laffineur K, Charlier J, Janssens M, van Bosterhaut B, Delmée M. *Brevibacterium lutescens* sp. nov., from human and environment samples. *Int Syst Evol Microbiol* 2003; 53: 1321-5.

Wauters G, Haase G, Avesani V, Charlier J, Janssen SM, van Broeck J, Delmée M. Identification of a novel *Brevibacterium* species isolated from humans and description of *Brevibacterium sanguinis* sp. nov. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2829-32.

Weiss K, Labbé AC, Laverdière M. *Corynebacterium striatum* meningitis: case report and review of an increasingly important *Corynebacterium* species. *Clin Infect Dis* 1996; 23: 1246-8.

Wooster SL, Qamruddin A, Clarke R, Victorates G, Panigrahi H. Brain abscess due to *Corynebacterium xerosis*. *J Infect* 1999; 38: 55-6.

Wren MW, Shetty N. Infections with *Corynebacterium diphtheriae*: six years' experience at an inner London teaching hospital. *Br J Biomed Sci* 2005; 62: 1-4.

Yagüe Guirao G, Martínez-Toldos MC, Mora Peris B, López Domínguez R, Romero Otero M, Muñoz Bellido JL, Segovia Hernández M. Activity of new quinolones against clinical isolates of *Corynebacterium* species. *Rev Esp Quimioter* 2000; 13: 267-70.

Yagüe G, Mora B, Martínez-Toldos MC, Rodríguez T, Valero-Guillén PL, Segovia M. Implicación de los genes *ermX* en la resistencia a los macrólidos y la telitromicina de *Corynebacterium jeikeium* y *Corynebacterium amycolatum*. *Rev Esp Quimioterap* 2005; 18: 236-42.

Yamada K, Komagata K. Taxonomic studies on coryneform bacteria. V Classification of coryneform bacteria. *J Gen Appl Microbiol* 1972; 18: 417-31.

Yanagawa R, Honda E. *Corynebacterium pilosum* and *Corynebacterium cystitidis*, two new species from cows. Int J Syst Bacteriol 1978; 28: 209-16.

Yang CY, Hsueh PR, Lu CY, Tsai HY, Lee PI, Shao PL, Wang CY, Wu TZ, Chen SW, Huang LM. *Rothia dentocariosa* bacteremia in children: report of two cases and review of the literature J Formos Med Assoc 2007; 106: S33-8.

Yassin AF, Steiner U, Ludwig W. *Corynebacterium aurimucosum* sp. nov., and emended descripción of *Corynebacterium minutissimum* Collins and Jones (1983). Int J Syst Evol Microbiol 2002a; 52: 1001-5.

Yassin AF, Steiner U, Ludwig W. *Corynebacterium appendicis* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2002b; 52: 1165-9.

Yassin AF, Kroppenstedt RM, Ludwig W. *Corynebacterium glaucum* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2003; 53: 705-9.

Yassin AF, Hupfer H, Schaal KP. *Dietzia cinnamea* sp. nov., a novel species isolated from a perianal swab of a patient with a bone marrow transplant. Int J Syst Evol Microbiol 2006; 56: 641-5.

Yassin AF. *Corynebacterium ureicelerivorans* sp. nov., a lipophilic bacterium isolated from blood culture Int J Syst Evol Microbiol 2007; 57: 1200-3.

Yassin AF, Siering C. *Corynebacterium sputi* sp. nov., isolated from the sputum of a patient with pneumonia. Int J Syst Evol Microbiol 2008; 58: 2876-9.

Yassin AF. *Corynebacterium ulceribovis* sp. nov., isolated from the skin of the udder of a cow with a profound ulceration. *Int J Syst Evol Microbiol* 2009; 59: 34-7.

Yumoto I, Nakamura A, Iwata H, Kijima K, Kusumoto K, Nodasaka Y, Matsuyama H. *Dietzia psychrocaliphilia* sp. nov., a novel facultatively psychrophilic alkaliphile that grows on hydrocarbons. *Int J Syst Evol Microbiol* 2002; 52: 875-90.

Zapardiel J, Nieto E, Gegúndez MI, Gadea I, Soriano F. Problems in minimum inhibitory concentration determinations in coryneform organisms. Comparison of an agar dilution and the E test. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994; 19: 171-3.

Zapardiel J, Nieto E, Soriano F. Urinary tract infections caused by beta-lactam-sensitive *Corynebacterium urealyticum* strains. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 174-5.

Zapardiel J, Nieto E, Soriano F. Evaluation of a new selective medium for the isolation of *Corynebacterium urealyticum*. *J Med Microbiol* 1998; 47: 79-83.

Zimmermann O, Spröer C, Kroppenstedt M, Fuchs E, Köchel G, Funke G. *Corynebacterium thomssenii* sp. nov., a *Corynebacterium* with N-acetyl- β -glucosaminidase activity from human clinical specimens. *Int J Syst Bacteriol* 1998; 48: 489-94.


Zinkernagel AS, von Graevenitz A, Funke G. Heterogeneity within *Corynebacterium minutissimum* strains is explained by misidentified *Corynebacterium amycolatum* strains. *Am J Clin Pathol* 1996; 106: 378-83.

ANEXO I

FICHA DE RECOGIDA DE DATOS


Ficha recogida de datos CORINEFORMES

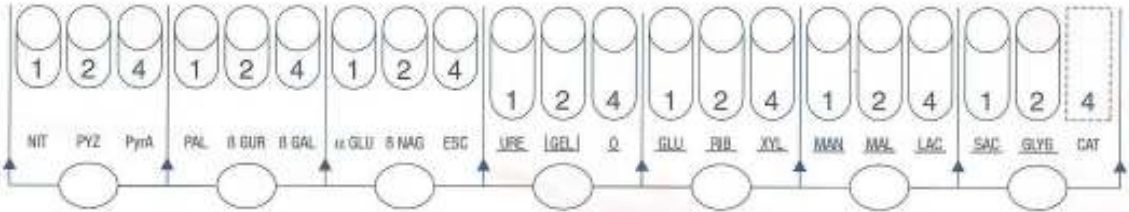
CEPA:	/ /		congelación caja / nro		
Tipo de muestra:					
	nro muestr +	orden/tipo bot	Tª detección	C.Vasc/BRC	otros aislados
HEMOCULTIVO					
	Tipo	Rec: S	Rec: L	Hemoc/BRC	otros aislados
CAT.VASCULAR					
	Prem/Nid/PI	Cultivos perf	Tª detección	C.Vasc/BAC	otros aislados
HEMOC.PED					
	Recuento	Sonda uretral/ Cirugía		otros aislados	
ORINA					
	Tipo	Anaerobios		otros aislados	
EX-ABS-DREN					
	TIPO			otros aislados	
OTRAS MUESTRAS					
PACIENTE	NH	Sexo / Edad	Tto AB/QM/CIR	Diagnóstico	Servicio
Caract. CULTIVO:	Tamaño	Bordes	Aspecto	Color	Hemólisis
Tª incubación (h)	grande	lisos	seca	blanco	SI NO
24 48 72 >72	pequeño	estriados	húmeda	beige	Anaerobiosis
Crecim.en AC	puntiforme		encerada	amarillo	SI NO
SI NO INCIP.			pegajosa	otro:	
			brillante		
			mucosa		
				
P. COMPLEMENTARIAS	Lipofilia		AS 20°C/1-2-3 d	Fer GLU 42°C/1-2-3 d	Otra:
	HIP		TIR	DNasa	CAMP
API Coryne V2.0					
Perfil	24 h:		48 h:		>48 h
ID					



REF. : _____

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origen / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :





[illegible]

ANEXO II

PUBLICACIONES RELACIONADAS CON EL TEMA

Esta tesis doctoral se ha presentado según el formato de publicaciones. Se han realizado publicaciones originales relacionadas con el tema que se exponen a continuación.

- **Fernández-Natal MI**, García Díez F, Salas Valien JS, Cachón García F, Soriano García F. Cistitis incrustante con aislamiento de *Corynebacterium* grupo D2. Med Clin 1992; 98: 419-22.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1533260>

- **Fernández-Natal MI**, Guerra JM, Alcoba M, Cachón F, Soriano F. Bacteraemia caused by multiply resistant *Corynebacterium urealyticum*: six cases and review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001; 20: 514-7.

<http://www.springerlink.com/content/?k=Corynebacterium+urealyticum>

- Letek M, Ordóñez E, **Fernández-Natal MI**, Gil JA, Mateos LM. Identification of the emerging skin pathogen *Corynebacterium amycolatum* using PCR amplification of the essential *divIVA* gene as a target. FEMS Microbiol Lett 2006; 265: 256-63.

<http://www3.interscience.wiley.com/journal/118603642/abstract?CRETRY=1&SRETRY=0>

- **Fernández-Natal MI**, Sáez-Nieto JA, Fernández-Roblas R, Asencio M, Valdezate S, Lapeña S, Rodríguez-Pollán RH, Guerra JM, Blanco J, Cachón F, Soriano F. Isolation of *Corynebacterium coyleae* from clinical samples: clinical and microbiological data. Eur J Clin Microbiol 2008; 27: 177-84.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17992547>

- **Fernández-Natal MI**, Sáez-Nieto JA, Valdezate S, Rodríguez-Pollán RH, Lapeña S, Cachón F, Soriano F. Isolation of *Corynebacterium ureicelerivorans* from normally sterile sites in humans. Eur J Clin Microbiol 2009; 28: 677-81.

<http://www.springerlink.com/content/p2224837v7026335/>